

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07K 14/00	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/52938 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 21. Oktober 1999 (21.10.99)																					
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02463 (22) Internationales Anmeldedatum: 13. April 1999 (13.04.99) (30) Prioritätsdaten: <table border="0"><tr><td>198 16 196.4</td><td>14. April 1998 (14.04.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 25 585.3</td><td>9. Juni 1998 (09.06.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 28 097.1</td><td>24. Juni 1998 (24.06.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 31 637.2</td><td>15. Juli 1998 (15.07.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 31 639.9</td><td>15. Juli 1998 (15.07.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 31 638.0</td><td>15. Juli 1998 (15.07.98)</td><td>DE</td></tr><tr><td>198 43 279.8</td><td>22. September 1998 (22.09.98)</td><td>DE</td></tr></table> (71)(72) Anmelder und Erfinder: HASSAN, Jomaa [DE/DE]; Breslauer Strasse 24, D-35398 Giessen (DE). (74) Anwalt: PANTEN, Kirsten; Patentanwälte Reichel, Parkstrasse 13, D-60322 Frankfurt am Main (DE).		198 16 196.4	14. April 1998 (14.04.98)	DE	198 25 585.3	9. Juni 1998 (09.06.98)	DE	198 28 097.1	24. Juni 1998 (24.06.98)	DE	198 31 637.2	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE	198 31 639.9	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE	198 31 638.0	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE	198 43 279.8	22. September 1998 (22.09.98)	DE	(81) Bestimmungsstaaten: AU, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IS, JP, KR, MX, NO, NZ, PL, SG, SK, TR, US, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
198 16 196.4	14. April 1998 (14.04.98)	DE																					
198 25 585.3	9. Juni 1998 (09.06.98)	DE																					
198 28 097.1	24. Juni 1998 (24.06.98)	DE																					
198 31 637.2	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE																					
198 31 639.9	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE																					
198 31 638.0	15. Juli 1998 (15.07.98)	DE																					
198 43 279.8	22. September 1998 (22.09.98)	DE																					
(54) Title: METHOD FOR IDENTIFYING CHEMICAL ACTIVE AGENTS AND ACTIVE AGENTS FOR INHIBITING THE 1-DESOXY-D-XYLULOSE-5-PHOSPHATE BIOSYNTHETIC PATHWAY																							
(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR IDENTIFIZIERUNG CHEMISCHER WIRKSTOFFE UND WIRKSTOFFE ZUR HEMMUNG DES 1-DESOXY-D-XYLULOSE-5-PHOSPHAT-BIOSYNTHESEWEGS																							
(57) Abstract <p>The invention relates to a method for identifying chemical active agents which are suitable for treating infectious diseases caused by single- or multi-celled parasites. According to the method, proteins which form part of the 1-desoxy-d-xylulose-5-phosphate metabolic pathway or derivatives thereof which act in the same way are brought into contact with the active agents being tested for their effectiveness against parasites and those active agents which inhibit the proteins or their derivatives are selected. The invention also relates to the active agents which are identified and to their use for producing medicaments for treating parasitic infections.</p>																							
(57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Auffinden von chemischen Wirkstoffen, die zur Therapie von Infektionskrankheiten geeignet sind, die durch ein- oder mehrzellige Parasiten hervorgerufen werden. Bei diesem Verfahren werden Proteine, die am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg beteiligt sind, oder deren gleichwirkende Derivate mit den auf ihre Wirksamkeit gegenüber Parasiten zu untersuchenden Wirkstoffen in Berührung gebracht und die Wirkstoffe, die die Proteine oder deren Derivate inhibieren, ausgewählt. Die Erfindung betrifft ferner die aufgefundenen Wirkstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln gegen parasitäre Infektionen.</p>																							

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verfahren zur Identifizierung chemischer Wirkstoffe und
Wirkstoffe zur Hemmung des 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-
Biosynthesewegs

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Identifikation von Wirkstoffen, die zur Behandlung von parasitären Erkrankungen verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten geeignet sind. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie. Weiter betrifft die Erfindung Proteine, sowie Teilstücke von Proteinen, ferner DNA-Sequenzen, die diese Proteine bzw. Teilstücke dieser Proteine kodieren, die Verwendung dieser DNA-Sequenzen, dieser Proteine oder ihrer Teilstücke zur Identifizierung von Stoffen mit Wirkung gegen ein- oder mehrzellige Parasiten, sowie die auf diesem Weg identifizierten Wirkstoffe und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln.

Der Begriff Parasiten beinhaltet einzellige Parasiten und mehrzellige Parasiten einschließlich Helminthen und Anthropoden. Diese verursachen Infektionserkrankungen bei Mensch und Tier. Im Sinne dieser Erfindung ist die streng wissenschaftliche Definition von Parasiten anzuwenden, d.h. unter einzelligen Parasiten sind Protozoen zu verstehen.

Es existiert bereits eine Vielzahl von Mitteln gegen parasitäre Erkrankungen. Die vorhandenen Mittel werden durch

die sich rasch entwickelnden Resistenzen gegen diese Mittel bereits unbrauchbar für die Therapie von Mensch und Tier. So sind bereits viele Regionen von Malariaparasiten befallen, die gegen Standard-Medikamente wie Chloroquin resistent sind. Auch sind Berichte über Resistenz-Entwicklung gegen Standard-Mittel (Praziquantel) zur Behandlung der Bilharziose bekannt. Diese Resistenzentwicklungen und andere Faktoren haben dazu geführt, daß Malaria und Bilharziose bereits zu den häufigsten Erkrankungen in den Tropen gezählt werden. Geschätzte 300-500 Millionen Menschen sind an Malaria erkrankt. 2-2,5 Millionen Menschen sterben im Jahr an Malaria. Weiter sind neue Medikamente wie Mefloquin sehr teuer in der Herstellung und sehr nebenwirkungsreich. Es besteht daher ein großer Bedarf an Arzneimitteln zur Therapie von Mensch und Tier.

Es gab in der Vergangenheit viele Ansätze zur Entwicklung von Chemotherapeutika gegen Parasiten, insbesondere gegen Krankheitserreger der Malaria und der Bilharziose. Einer dieser Ansätze befaßt sich mit der Inhibition der sogenannten Isoprenoidbiosynthese. Isoprenoide sind Moleküle, die aus einzelnen Isopreneinheiten (Isopentenylidiphosphat) gebildet werden, und wichtige Funktionen in der Zelle übernehmen. Hierzu gehören Sterole, Ubichinone und andere Moleküle, die für den Haushalt der Parasiten wichtig sind. Die Vorgehensweise basierte hierbei auf einem Modell, das in Pilzen und in Säugerzellen etabliert wurde. In Pilzen und in Säugerzellen entsteht die Untereinheit Isopentenylidiphosphat auf der Basis der Kondensation von drei Molekülen Acetyl-CoA zu HMG-CoA. HMG-CoA wird dann von der HMG-CoA-Reduktase zu Mevalonat umgewandelt, welches dann mit Mevalonat-Phosphat als Zwischenstufe zu Isopentenylidiphosphat umgewandelt wird (siehe Figur 7). Inhibitoren der HMG-

CoA-Reduktase wie zum Beispiel Lovastatin, Simvastatin und Pravastatin wurden zur Inhibition des Wachstums der Parasiten verwendet. Bei Malaria gelang es zwar, unter Anwendung sehr hoher Dosen Lovastatin und Simvastatin eine in vitro Inhibition zu erreichen, jedoch mißlang die Inhibition in vivo. Die Behandlung Schistosoma-infizierter Mäuse mit Lovastatin führte zu einer Inhibition der Eiablage dieser Würmer, jedoch mußten sehr hohe Konzentrationen an Lovastatin aufgewendet werden, um einen Teil der Würmer in vivo zu töten.

Es wurde nun überraschend gefunden, daß Parasiten, insbesondere Plasmodien und Trypanosomen (Verursacher der Malaria und der Schlafkrankheit) zumindest einen weiteren Stoffwechselweg zur Synthese von Isoprenoiden besitzen. Dieser Stoffwechselweg beruht auf einer Kondensation von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat (DOXP). DOXP wird dann umgewandelt zu 2-C-Methyl-D-erythrose-4-Phosphat, das dann mit 2-C-Methyl-erythrithol-4-Phosphat als Zwischenstufe zu Isopentenyl-diphosphat umgewandelt wird. An diesem Stoffwechselweg sind unter anderem die Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase beteiligt (Siehe Figur 7). Dieser Stoffwechselweg war bisher nur in Pflanzen, in Algen und in einigen Bakterien beschrieben worden (Sprenger et al. PNAS, 94 (1997) 12857-62 und Kuzuyama et al. Tetrahedron Letters 39 (1998) 4509-12).

Die Inhibition des oben beschriebenen DOXP-Stoffwechselwegs, insbesondere der Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase durch die dem Fachmann bekannten Techniken eignet sich zur Vorbeugung und Behandlung von Infektionen, verursacht durch ein- und mehrzellige Parasiten bei Mensch

und Tier. Da dieser Stoffwechselweg nicht im Menschen vorhanden ist, eignet er sich hervorragend als Ziel für eine gezielte Chemotherapie von Parasiten. Insbesondere eignen sich die Enzyme Desoxyxylulose-5-Phosphat-Synthase und Desoxyxylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase als Ziel für eine Chemotherapie. Besonders nebenwirkungsarm und geeignet zeigte sich die Inhibition des Enzyms Desoxyxylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase von Malaria, da der Mensch weder über Substrate und deren Vorstufen noch über das Produkt des Enzyms noch über das Enzym selbst verfügt.

Die vorliegende Erfindung betrifft Verfahren zum Auffinden von Wirkstoffen, die den DOXP-Stoffwechselweg hemmen, und diese Wirkstoffe zur Herstellung von Arzneimitteln für die Therapie und Prophylaxe von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, ein neues Verfahren zur Identifikation von Wirkstoffen zur Therapie von parasitären Erkrankungen bei Mensch und Tier bereitzustellen. Eine weitere Aufgabe besteht darin, ein Verfahren zur Auffindung eines Medikamentes zu entwickeln, das selektiv den Erreger abtötet und nebenwirkungsarm ist.

Diese Aufgabe wird durch ein Verfahren gemäß Anspruch 1 realisiert. Die Erfindungsverfahren und ermittelten Wirkstoffe sind dadurch gekennzeichnet, daß

- die Isoprenoidbiosynthese im sogenannten 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg gehemmt wird.

Alle beschriebenen Stoffwechselwege sind nicht in Mensch und Tier vorhanden, sondern nur in Pflanzen, Algen, manchen

Eubakterien und in Parasiten, wie zum Beispiel Malariaparasiten; daher zeichnet sich diese Therapie-Strategie als sehr nebenwirkungsarm aus.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin Enzyme, die an diesem Stoffwechselweg beteiligt sind, sowie Teilstücke dieser Enzyme. Diese Enzyme sind zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Identifikation von Wirkstoffen geeignete Proteine. Die vorliegende Erfindung betrifft weiter DNA-Sequenzen, die diese Enzyme kodieren, bzw. Teilstücke dieser Enzyme.

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren und Antikörper zur Identifizierung der Enzyme oder ihrer Teilstücke sowie die Herstellung der Enzyme oder ihrer Teilstücke über rekombinante Technologie.

Die Erfindung betrifft weiter die Verwendung dieser Enzyme oder ihrer Teilstücke, oder die Verwendung der DNA-Sequenzen, die diese Enzyme kodieren, bzw. Teilstücke dieser Enzyme zur Identifizierung von Stoffen mit Wirkung gegen ein- oder mehrzellige Erreger.

Die Erfindung betrifft weiter Wirkstoffe, die mit Hilfe der erfindungsgemäßen Enzyme aufgefunden werden.

Im folgenden wird die Erfindung anhand der beiliegenden Zeichnungen genauer beschrieben.

Es zeigen:

Fig. 1a die Nukleotid-Sequenz des Gens, das das Protein 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aus *Plasmodium falciparum* codiert,

Fig. 1b die Nukleotid-Sequenz des Gens, das die 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase aus *Plasmodium falciparum* codiert,

Fig. 2a die Nukleotid-Sequenz des Gens, die 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aus *Plasmodium falciparum* codiert und die entsprechende Aminosäure-Sequenz

Fig. 2b die Nukleotid-Sequenz des Gens, die 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase aus *Plasmodium falciparum* codiert und die entsprechende Aminosäure-Sequenz,

Fig. 3a die Aminosäure-Sequenz des Proteins 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase aus *Plasmodium falciparum*,

Fig. 3b die Aminosäure-Sequenz des Proteins 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase aus dem Parasiten *Plasmodium falciparum*,

Fig 4a einen Ausschnitt aus der Nukleotid-Sequenz nach Fig. 1b,

Fig. 4b einen Ausschnitt aus der Nukleotid-Sequenz mit der entsprechenden Aminosäuresequenz nach Fig. 2b,

Fig. 4c einen Ausschnitt aus der Aminosäure-Sequenz nach Fig. 3b,

Fig.5 In-vivo-Daten für die Parasitämie-Werte nach 4-tägiger Therapie mit jeweils drei Dosen der Stoffe:

Formyl, das 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz entspricht, und

Acetyl, das 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz entspricht,

Fig. 6a die Inhibition des Wachstums von *P. falciparum* nach Zugabe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz (offene Kreise) und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz (geschlossene Kreise) für den Stamm HB3,

Fig. 6b die Inhibition des Wachstums von *P. falciparum* nach Zugabe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (offene Kreise) und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (geschlossene Kreise) für den Stamm A2, und Fig. 6c die Inhibition des Wachstums von *P. falciparum* nach Zugabe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (offene Kreise) und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz (geschlossene Kreise) für den Stamm Dd2, und Fig. 7 den klassischen Acetat/-Mevalonat-Biosyntheseweg im Vergleich zum alternativen DOX-P-Biosyntheseweg.

Mittels genetischer Verfahren wurden die kodierenden Gene der Enzyme DOXP-Synthase, und DOXP-Reduktoisomerase nachgewiesen (Figuren 1a, 1b, 2a, 2b). Nach Anreicherung durch die Polymerase-Ketten-Reaktion aus dem Genom von *P. falciparum* wurden diese Gene in bakteriellen Plasmiden kloniert und ihre Nukleotidsequenz bestimmt. Die Sequenzdaten zeigten eine hohe Homologie dieser Gene mit den entsprechenden Genen aus Algen, Pflanzen und Bakterien. Die sehr hohen Homologien zeigten, daß die drei Gene die Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase von *P. falciparum* codieren.

Nach Expression in heterologen Systemen wurden die Enzyme als rekombinante Proteine gereinigt und für Aktivitätsstudien in zellfreien Systemen eingesetzt. Die Aktivität der DOXP-Synthase wurde durch Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat gemessen. Die Aktivität der DOXP-Reduktoisomerase wurde durch Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-

D-erythritol-4-Phosphat in Gegenwart von NADPH gemessen. Die Messung der Veränderung der NADPH-Konzentration erfolgt über eine Parametervariation. Dieses Verfahren ist dem Fachmann bekannt.

Die Enzyme können über die sie codierende DNA-Sequenz (Figuren 1a, 1b, 2a, 2b) und die davon abgeleitete Aminosäuresequenz (Figuren 3a und 3b) definiert werden. Die Enzyme der einzelnen Parasiten können sich jedoch von Parasit zu Parasit unterscheiden. Solche Variationen der Aminosäuren sind in der Regel Aminosäureaustausche. Es kann sich aber auch um Deletionen, Insertionen und Additionen von Aminosäuren zur Gesamtsequenz handeln. Die erfindungsgemäßen Enzyme können - sowohl im Umfang und Art abhängig von der Zelle und Zelltyp, in dem sie exprimiert werden - glycosyliert oder nicht glycosyliert sein.

Die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilstücke dieser Enzyme werden durch Expression der erfindungsgemäßen DNA in geeigneten Expressionssystemen, beispielsweise in Bakterien, insbesondere in *E. coli*, als prokaryontisches Expressionssystem oder in einem eukaryontischen Expressionssystem, insbesondere COS-Zellen oder *Dictyostelium discoideum*, hergestellt.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Nukleinsäuresequenz ist es möglich, im Genom von beliebigen Parasiten die kodierenden Gene oder deren Varianten zu suchen, diese zu identifizieren und die gewünschten kodierenden Gene für die Enzyme zu isolieren. Derartige Verfahren und die hierfür geeigneten Screening-Methoden sind dem Fachmann bekannt.

Durch die Anwendung der rekombinanten Technologie ist es möglich, eine Vielzahl von Varianten von Enzymen oder Teilstücke von Enzymen herzustellen. Derartige Derivate können beispielsweise in einzelnen oder mehreren Aminosäuren durch Substitution, Deletion oder Addition modifiziert sein. Die Derivatisierung kann beispielsweise über site directed mutagenesis (ortsspezifische Mutagenese) erfolgen. Derartige Variationen sind für einen Fachmann ohne weiteres durchführbar. Es muß lediglich sichergestellt sein, daß die charakteristischen Eigenschaften der Enzyme erhalten bleiben. Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung sind deshalb die Enzyme, die am DOXP-Stoffwechselweg beteiligt sind, insbesondere DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase, die

- a) das Produkt einer prokaryontischen oder eukaryontischen Expression einer exogenen DNA sind,
- b) codiert werden von einer Sequenz in Figuren 1a, 1b, 2a und 2b
- c) codiert werden von DNA-Sequenzen, die mit den in Figuren 1a, 1b, 2a und 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen (siehe z.B. Figuren 4a und 4b) im DNA-Bereich, der das reife Protein kodiert, hybridisieren, oder
- d) codiert werden von DNA-Sequenzen, die ohne die Degeneration des genetischen Codes mit den in b) bis c) definierten Sequenzen hybridisieren würden und ein Polypeptid mit derselben Aminosäuresequenz kodieren.

Bevorzugt sind Enzyme, welche von den Nukleotiden aus Figuren 1a, 1b, 2a und 2b oder von DNA-Sequenzen, die aufgrund der Degeneration des genetischen Codes ein Polypeptid mit derselben Aminosäuresequenz codieren würden, codiert werden.

Die beiden erfindungsgemäßen Enzyme (Sequenz in Figuren 3a und 3b) können als neue Prototypen von spezifischen Proteinen ein- und mehrzelliger Parasiten, insbesondere der einzelligen Parasiten angesehen werden.

Ein Gegenstand dieser Erfindung sind Nukleinsäuresequenzen, welche die Enzyme kodieren und ausgewählt sind aus der Gruppe

- a) der in den Figuren 1a, 1b, 2a, und 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder deren komplementäre Sequenzen,
- b) Nukleinsäuresequenzen, die mit einer der Sequenzen von a) hybridisieren,
- c) Nukleinsäuresequenzen, die ohne die Degeneration des genetischen Codes mit einer der in a) oder b) genannten Sequenzen hybridisieren würden.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Enzyme aus beliebigen Parasiten, welche im wesentlichen Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat kondensieren (DOXP-Synthase) und 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat umsetzen (DOXP-Reduktoisomerase). Diese den Enzymen aus Malaria-Parasiten analogen Enzyme können dadurch erhalten werden, daß mit einer Hybridisierungsprobe, die Enzyme aus Malaria-Parasiten codierende Sequenzen enthält, eine cDNA-Bibliothek oder genomische Bibliothek des entsprechenden Parasiten nach dem Fachmann geläufigen Methoden gescreent wird oder über den Sequenzvergleich der DNA und Proteinsequenz für Enzyme von Malaria-Parasiten mit anderen Parasiten-Enzymen.

Mit Hilfe der Nukleinsäuren können erfindungsgemäße Enzyme in reproduzierbarer Weise in großen Mengen gewonnen werden. Zur Expression in prokaryontischen und eukaryontischen Organismen wird die Nukleinsäure nach dem Fachmann geläufigen Verfahren in geeignete Expressionsvektoren integriert. Vorzugsweise enthält ein solcher Expressionsvektor einen regulierbaren/induzierbaren Promotor. Zur Expression werden diese rekombinanten Vektoren dann nach bekannten Verfahren in geeignete Wirtszellen eingeführt und die transformierten, transfizierten bzw. transduzierten Wirtszellen unter Bedingungen kultiviert, die eine Expression des heterologen Gens ermöglichen. Als Wirtszellen eignen sich prokaryontische Zellen, wie z.B. *E. coli*, und eukaryontische Zellen, insbesondere Hefen (z.B. *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Pichia pastoris*), Insektenzellen (z.B. Zelllinien von *Drosophila melanogaster* wie S2-Zellen, *Spodoptera frugiperda*, *Trichoplusia ni*), Wirbeltierzelllinien, vor allem Teratokarzinoma-Zelllinien wie CHO- oder COS-Zellen, und pflanzliche Zelllinien.

Die erfindungsgemäßen Enzyme können auch in transgenen Pflanzen und Tieren (z.B. Mäuse, Schafe, Ziegen, Schweine, Meerschweinchen) exprimiert werden. Das Expressionssystem ist dabei vorteilhafterweise durch dem Fachmann bekannte Techniken so zu gestalten, daß die produzierten Enzyme mit der Milch der Tiere ausgeschieden werden bzw. aus leicht zu gewinnenden Pflanzenteilen (Früchten, Blättern, Blüten, Sproß- und Wurzelteilen) erhalten werden können.

Als Expressionsvektoren für Wirbeltierzelllinien eignen sich besonders Systeme, die von Papillomaviren (z.B. SV40), Retroviren, Sindbisviren, Cytomegaloviren und Vacciniaviren abgeleitet sind. Für Insektenzellen eignet sich besonders

das Baculovirus-System, für Pflanzenzellen Systeme auf der Basis des Ti-Plasmids von *Agrobacterium tumefaciens* und der Beschuß der Zellen mit Nukleinsäure überzogenen Partikeln.

Von besonderer Bedeutung ist die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme in Schleimpilzen wie *Dictyostelium discoideum*, *Polysphondylium pallidum* und *Physarum polycephalum*, da ihre Zellen kostengünstig in großen Mengen auf einfachen Medien kultiviert werden können. Die Verwendung von *Dictyostelium discoideum* bietet den weiteren Vorteil, daß dieser Organismus ähnliche Codone für die jeweiligen Aminosäuren benutzt wie *Plasmodium falciparum* und dadurch eine besonders effektive Produktion der erfindungsgemäßen Enzyme erreicht wird. Außerdem sind induzierbare Promotoren (z.B. durch Nahrungsmangel) für Expressionsvektoren für *Dictyostelium discoideum* bekannt. Dadurch kann die Ausbeute an rekombinantem Enzym weiter gesteigert werden.

Für die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme eignen sich besonders solche Wirtszellen und Organismen, die keine intrinsischen Enzyme besitzen, die Pyruvat und Glyceraldehyd-3-Phosphat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat kondensieren (DOXP-Synthase) und 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat umsetzen (DOXP-Reduktoisomerase). Dies trifft für Archaeobakterien, Tiere, Pilze, Schleimpilze und einige Eubakterien zu. Durch das Fehlen dieser intrinsischen Enzymaktivitäten wird die Detektion und Aufreinigung der rekombinanten Enzyme wesentlich erleichtert. Auch wird es erst dadurch möglich, mit geringem Aufwand die Aktivität und insbesondere die Hemmung der Aktivität der erfindungsgemäßen rekombinanten Enzyme durch verschiedenen Chemikalien und Pharmaka in Rohextrakten aus den Wirtszellen zu messen.

Die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme erfolgt vorteilhafterweise dann in eukaryontischen Zellen, wenn post-translatorische Modifikationen und eine native Faltung der Polypeptidkette erreicht werden soll. Außerdem wird in Abhängigkeit vom Expressionssystem bei der Expression genomischer DNA-Sequenzen erreicht, daß Introns durch Spleißen der DNA beseitigt und die Enzyme in der für die Parasiten charakteristischen Polypeptidsequenz produziert werden. Introns codierende Sequenzen können auch durch rekombinante DNA-Technologie aus den zu exprimierenden DNA-Sequenzen beseitigt oder experimentell eingefügt werden.

Die Isolierung des Proteins kann aus der Wirtszelle oder dem Kulturüberstand der Wirtszelle nach dem Fachmann bekannten Verfahren erfolgen. Es kann auch eine in vitro Reaktivierung der Enzyme erforderlich sein.

Zur Erleichterung der Aufreinigung können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit verschiedenen Peptidketten exprimiert werden. Dazu eignen sich besonders Oligo-Histidin-Sequenzen und Sequenzen, die von der Glutathion-S-Transferase, Thioredoxin oder Calmodulin-bindenden Peptiden abgeleitet sind. Fusionen mit Thioredoxin-abgeleiteten Sequenzen eignen sich besonders für prokaryontische Expression, da dadurch die Löslichkeit der rekombinanten Enzyme erhöht wird.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit solchen, dem Fachmann bekannten, Peptidketten exprimiert werden, daß die rekombinanten Enzyme in das extrazelluläre Milieu oder in bestimmte Kompartimente der Wirtszellen transportiert wer-

den. Dadurch kann sowohl die Aufreinigung, als auch die Untersuchung der biologischen Aktivität der Enzyme erleichtert werden.

Bei der Expression der erfindungsgemäßen Enzyme kann es sich als zweckmäßig erweisen, einzelne Codone zu verändern. Dabei ist der gezielte Austausch von Basen in der kodierenden Region auch sinnvoll, wenn die genutzten Codone in den Parasiten abweichend sind von der Codonnutzung im heterologen Expressionssystem, um eine optimale Synthese des Proteins zu gewährleisten. Zudem sind oft Deletionen von nicht-translatierten 5'-bzw. 3'-Abschnitten sinnvoll, beispielsweise wenn mehrere destabilisierende Sequenzmotive ATTTA im 3'-Bereich der DNA vorliegen. Dann sollten diese bei der bevorzugten Expression in Eukaryonten deletiert werden. Veränderungen dieser Art sind Deletionen, Additionen oder Austausch von Basen und ebenfalls Gegenstand der vorliegenden Erfindung.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme unter standardisierten Bedingungen durch dem Fachmann bekannte Techniken durch in vitro-Translation gewonnen werden. Dafür geeignete Systeme sind Kaninchen-Reticulozyten- und Weizenkeim-Extrakte. Auch kann in vitro transskribierte mRNA in Xenopus-Oocyten translatiert werden.

Durch chemische Synthese können Oligo- und Polypeptide hergestellt werden, deren Sequenzen aus der Peptidsequenz der erfindungsgemäßen Enzyme abgeleitet sind. Bei geeigneter Wahl der Sequenzen besitzen derartige Peptide Eigenschaften, die für die vollständigen erfindungsgemäßen Enzyme charakteristisch sind. Derartige Peptide können in großen Mengen hergestellt werden und eignen sich besonders für

Studien über die Kinetik der Enzymaktivität, die Regulation der Enzymaktivität, die dreidimensionale Struktur der Enzyme, die Hemmung der Enzymaktivität durch verschiedene Chemikalien und Pharmaka und die Bindungsgeometrie und Bindungsaffinität verschiedener Liganden.

Vorzugsweise wird zur rekombinanten Herstellung der erfindungsgemäßen Enzyme eine DNA mit den Nukleotiden aus den in den Figuren 1a, 1b, 2a und 2b dargestellten Sequenzen oder ein Fragment gemäß den Figuren 4a und 4b verwendet.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind Verfahren zur Gewinnung der Enzyme, die beteiligt sind am DOXP-Stoffwechselweg, insbesondere die Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase durch Isolierung aus den Parasiten. Die Isolierung der Enzyme erfolgt aus Parasiten-Extrakten über chromatographisch, elektrophoretische und andere dem Fachmann bekannte Verfahren. Die Enzyme werden mittels Messung der jeweiligen enzymatischen Aktivität oder Reaktivität mit entsprechenden Antikörpern ermittelt.

Der Nachweis von transformierten, transfizierten bzw. transduzierten Wirtszellen, welche die Enzyme rekombinant produzieren, sowie die Aufreinigung des Proteins erfolgen vorzugsweise über Antikörper, die an diese Enzyme binden. Derartige Antikörper sind mit Hilfe der erfindungsgemäßen Enzyme oder Teile der Enzyme als Antigen oder Immunogen in einfacher Weise nach bekannten Verfahren erhältlich.

Mit den erfindungsgemäßen Antikörpern gegen die Proteine können beispielsweise durch Western-Blotting-Analysen homologe bzw. kreuzreagierende Proteine anderer Parasiten detektiert werden.

Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung sind Methoden zur Bestimmung der enzymatische Aktivität der DOXP-Enzyme, insbesondere der Enzyme DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase. Dies kann nach den bekannten Anleitungen bestimmt werden (Sprenger et al. PNAS, 94 (1997) 12857-62 und Kuzuyama et al. Tetrahedron Letters 39 (1998) 4509-12). Hierbei wird die Kondensation von Pyruvat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat (DOXP-Synthase) und die Umwandlung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat (DOXP-Reduktoisomerase) detektiert. Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung ist die Verwendung dieser Meßverfahren zur Ermittlung von Stoffen, die die Aktivität der jeweiligen Enzyme inhibieren.

Durch die Anwendung der rekombinanten Technologie ist es möglich, eine Vielzahl von Varianten von Enzymen oder Teilstücken von Enzymen herzustellen. Derartige Derivate können beispielsweise modifiziert sein in einzelnen oder mehreren Aminosäuren durch Substitution, Deletion oder Addition. Die Derivatisierung kann beispielsweise über site directed mutagenesis (ortsspezifische Mutagenese) erfolgen. Derartige Variationen sind für einen Fachmann ohne weiteres durchführbar. Es muß lediglich sichergestellt sein, daß die charakteristischen Eigenschaften der Enzyme erhalten bleiben.

Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Enzyme und ihrer Homologen können neue spezifische Wirkstoffe gegen Parasiten gefunden werden.

Insbesondere können die oben beschriebenen Detektions-Methoden in geeigneten Testkits zum Screening auf antipara-

sitäre Wirkung von Stoffen verwendet werden. Hierzu gehören Methoden, die dem Fachmann bekannt sind und sich zum Screening von Naturstoffen aus Flora und Fauna, aus Pflanzen, Algen, Bakterien oder Tieren eignen, und deren Derivate, chemischen Bibliotheken, auch Bibliotheken, die mittels dem Fachmann bekannter Techniken, einschließlich der kombinatorischen Chemie erstellt wurden (Pindur et al. Pharmazie in unserer Zeit 26 (1997) 24-30; Broach et al. Nature 384 (1997) 14-6; Lack et al. Chimia 50 (1996) 445-7; Czarnik und Ellmann Accounts of chemical research 29 (1996); Chemical and engineering News 74 (1996) 28-73; Lorin et al. Chemical reviews 96 (1996) 555-600; Weber et al. Nachrichten aus Chemie, Technik und Laboratorium 42 (1994) 698-702).

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die Verwendung von Proteinen oder Teilstücken dieser Proteine, hierzu gehören Proteine oder Teilstücke von Proteinen mit oder auch ohne enzymatischer Aktivität in dem Fachmann bekannten Techniken zur Ermittlung von Strukturen des Proteins, insbesondere die Charakterisierung der Bindungsstellen, die sich für die Entwicklung von Mitteln mit inhibierender Wirkung auf die enzymatische Aktivität eignen.

Wirkstoffe die mit Hilfe der erfindungsgemäßen Proteine aufgefunden werden, sind für die Medizin und der Tiermedizin von hohem Interesse.

Die Wirkstoffe, die mit Hilfe der erfindungsgemäßen Proteine gefunden werden, eignen sich bei günstiger Warmblütertoxizität zur Bekämpfung von pathogenen Parasiten, die bei Menschen und in der Tierhaltung und Tierzucht bei Nutz-, Zucht-, Zoo-, Labor-, Versuchs- und Hobbytieren vorkommen.

Sie sind dabei gegen alle oder einzelne Entwicklungsstadien der Schädlinge, sowie gegen resistente und normal sensible Parasiten wirksam. Durch die Bekämpfung der Parasiten sollen Krankheiten, Todesfälle und Leistungsminderungen (z.B. bei der Produktion von Fleisch, Milch, Wolle, Häuten, Eiern usw.) vermindert werden, so daß der Einsatz der Wirkstoffe eine wirtschaftlichere und einfachere Tierhaltung möglich ist.

Unter Verwendung dieser erfindungsgemäßen Verfahren einschließlich der etablierten Assays (Ansätze) konnte gezeigt werden, daß die Aktivität der DOXP-Reduktoisomerase durch 3-(N-acetyl-N-hydroxyamino)propylphosphonat und derivative 3-(N-formyl-N-hydroxyamino)propylphosphonat (fosmidomycin) gehemmt wird. Beide Substanzen stammen aus einer chemischen Library von Acylhydroxylaminoalkylphosphonsäurederivaten. Diese Verbindungsgruppe wurde in der Vergangenheit als herbizid und als bakterizid beschrieben (US 4693742, DE2733658). Hier zeigte sich die Effizienz des Systems für das Auffinden von antiparasitären Wirkstoffen. Die Ergebnisse aus den Enzymassays konnten auch in der Malariakultur (siehe Beispiele) und im Tierversuch (siehe Beispiele) bestätigt werden. Die mittels dieser Enzymassays ermittelten Inhibitoren konnten das Wachstum von Malariaparasiten in vitro und in vivo hemmen. Eine Behandlung der Tiere über einem Zeitraum von 8 Tagen zeigte eine Heilung der Tiere. Hier zeigte die Acetylform eine dreifach höhere Wirksamkeit als die Formylform. Dieses Ergebnis ist sehr überraschend, da wesentlich höhere (bis zu 1000x) Konzentrationen 3-(N-acetyl-N-hydroxyamino)propylphosphonat benötigt werden, um das Bakterienwachstum zu hemmen.

Damit sind das erfindungsgemäße Verfahren zur Identifizie-

rung von Wirkstoffen und die erfindungsgemäßen Wirkstoffe zur therapeutischen und prophylaktischen Behandlung von Infektionen bei Mensch und Tier geeignet, die durch Parasiten, Pilze oder Viren hervorgerufen werden. Die Verbindungen sind als Prophylaxe gegen sowie zur Behandlung von Infektionen, hervorgerufen durch Erreger der Malaria und der Schlafkrankheit sowie der Chagas-Krankheit, der Toxoplasmose, der Amöbenruhr, der Leishmaniosen, der Trichomoniasis, der Pneumozystose, der Balantidiose, der Kryptosporidiose, der Sarkozystose, der Akanthamöbose, der Naeglerose, der Kokzidiose, der Giardiose und der Lambliose geeignet.

Die erfindungsgemäßen Verfahren und erfindungsgemäßen Wirkstoffe eignen sich besonders zur Behandlung der Malaria, der Schlafkrankheit und der Leishmaniosen.

Die erfindungsgemäßen Wirkstoffe eignen sich auch zur Inhibition des Stoffwechselwegs von Bakterien, und von Pflanzen. Damit eignen sich Substanzen, die erfindungsgemäß als Inhibitoren des DOXP-Stoffwechselweges identifiziert werden, auch zur Anwendung als Herbizide und zur Anwendung bei der Behandlung von bakteriellen Infektionen bei Mensch und Tier.

Zu den für eine Behandlung geeigneten Nutz- und Zuchttieren gehören Säugetiere, wie z.B. Rinder, Pferde, Schafe, Schweine, Ziegen, Kamele, Wasserbüffel, Esel, Kaninchen, Salz- und Süßwasserfische, wie z. B. Forellen, Karpfen und Aale. Zu den geeigneten Labor- und Versuchstieren gehören Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Goldhamster, Hunde, Katzen und Schweine. Zu den geeigneten Hobbytieren gehören Hunde und Katzen. Die Anwendung kann sowohl prophylaktisch als auch therapeutisch erfolgen. Die Anwendung der Wirkstoffe

erfolgt direkt oder in Form von geeigneten, dem Fachmann bekannten Zubereitungen wie enteral, parenteral, dermal oder nasal.

Die erfindungsgemäßen Wirkstoffe können in Kombination mit allen dem Fachmann bekannten Antiinfektiva verwendet werden. Hierzu gehören Substanzen, die antibakterielle, antiparasitäre, antivirale oder fungizide Wirkungen haben. Hierzu gehören Antiinfektiva, die in der Roten Liste und in der Fachliteratur (Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie von Forth et al. BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim 1998; Antibiotikatherapie von Simon und Stille, Schattauer-Verlag, Stuttgart 1993) aufgeführt sind.

Da einige Parasiten sowohl über dem Mevalonat-Stoffwechselweg, als auch über dem DOXP-Stoffwechselweg verfügen, betrifft die Erfindung weiter die Kombination von Inhibitoren des DOXP-Stoffwechselweges mit Mitteln, die den Fettstoffwechselweg inhibieren, einschließlich Inhibitoren der Synthese oder der Aufnahme von Lipiden, insbesondere Inhibitoren des Mevalonat-Stoffwechselweges. Hier seien insbesondere die Inhibitoren der Enzyme HMG-CoA-Synthase und Inhibitoren der HMG-CoA-Reduktase genannt. Zu den Inhibitoren der HMG-CoA-Reduktase zählen insbesondere Lovastatin und Derivate, Mevastatin und Derivate, Compactin und Derivate, Simvastatin und Derivate, Pravastatin und Derivate, Atorvastatin und Derivate, Fluvastatin und Derivate und Cerivastatin und Derivate.

Beispiel 1

Expressionsklonierung des die DOXP-Reductoisomerase codierenden Gens von *P. falciparum*.

Die Klonierung des die DOX-Reductoisomerase von *P. falciparum* codierenden Gens erfolgte durch PCR-Amplifikation der entsprechenden Sequenzen von genomischer DNA als Matrize. Zur Gewinnung von genomischer DNA wurde der *P. falciparum*-Stamm HB3 nach der Kerzentopf-Methode kultiviert (Tranger und Jensen (1976), Science 193, 673-675). Als Kulturmedium wurde RPMI 1640 (mit HEPES und L-Glutamin, Gibco) mit 10 % humanem Serum, 0.3 µg / ml Gentamycin und 0.1 mM Hypoxanthin supplementiert und mit humanen Erythrozyten ein Hämatokrit von 5 % eingestellt. Für die Präparation der DNA wurden 15 Kulturschalen mit je 35 ml Kulturvolumen bei ca. 4 % Parasitämie verwendet. Die infizierten Erythrozyten wurden durch Zentrifugation geerntet und zweimal in Trager-Puffer (57 mM NaCl, 58 mM KCl, 1 mM NaH₂PO₄, 7 mM K₂HPO₄, 11 mM NaHCO₃, 14 mM Glucose) gewaschen. Die Parasiten wurden aus den Erythrozyten freigesetzt, indem das Zellsediment mit einem 10fachen Volumen 1 %iger Saponinlösung in Trager-Puffer für 5 min auf Eis lysiert wurde (modifiziert nach Kilejian (1979), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 4650-4653). Die freien Parasiten wurden zweimal durch Zentrifugation (10 min, 10.000 rpm, 4 °C) mit einer Lösung von 1 % BSA in Trager-Puffer gewaschen. Die DNA-Präparation aus den gewonnenen freien Parasiten erfolgte nach Standardprotokollen. Zunächst wurden die Parasiten mit Proteinase K verdaut. Dann wurde der Ansatz viermal mit Phenol / Chloroform extrahiert, die DNA-Lösung über Nacht gegen TE dialysiert und anschließend mit Isopropanol präzipitiert. Für die PCR-Amplifikation wurden folgende Primer verwendet:

PfYAEMfor 5'-CTGAATTTTCATATTACAAAATTAATAGATG-3'

PfYAEMrev 5'-GTACTATGAAGAATTATGTTTGTGTATAT-3'.

Für die PCR-Reaktion wurde folgender Ansatz verwendet:

3 µl 10 x PCR-Puffer
2,4 µl 25 mM MgSO₄
2,4 µl 2,5 mM dNTP
2 µl Matrizen-DNA (0,2 µg / ml)
2 µl Primer 1 (7,5 µM)
2 µl Primer 2 (7,5 µM)
0.2 µl Taq-Polymerase (5 U / µl)
16 µl H₂O

Die Amplifikation erfolgte mit folgendem Profil:

3 Zyklen: 96°C 1 min
 48°C 1 min
 72°C 3 min
32 Zyklen: 95 °C 40 sec
 48°C 1 min
 72°C 3 min

Nach dem letzten Zyklus wurde der Ansatz zur vollständigen Verlängerung aller Produkte noch 10 min bei 72°C inkubiert. Das PCR-Produkt von 4 derartigen Ansätzen wurde vereinigt und über ein 0.7 %iges Agarosegel gereinigt. Die Elution der DNA aus dem Agaroseblöckchen erfolgte mit dem „Kit for DNA extraction“ (Millipore, Kat. Nr. S667). Die eluierte DNA wurde mit Ethanol präzipitiert und in 10 µl H₂O aufgenommen. Anschließend wurde das PCR-Produkt nach den Vorschriften des Herstellers mit dem TA-cloning kit (Invitrogen) kloniert. Dabei wurden 20 mg insert-DNA für einen Ligationsansatz verwendet. Bakterienkolonien, die das ge-

wünschte rekombinante Plasmid trugen, wurden durch analytische Plasmidpräparation und EcoR I- Verdau der Plasmide identifiziert. Die klonierten PCR-Produkte wurden dann unter Verwendung von Standard- Forward- und Reverse-Primern sequenziert; die Sequenzen wurden mit der Technik des Primer Walkings vervollständigt.

Für die Expression in COS-7- Zellen wurde ein PCR-Produkt, das in der entsprechenden Orientierung im pCR2.1-Vektor vorlag, in den Expressionsvektor pBK-CMV (Stratagene) umkloniert. Die Umklonierung erfolgte dabei über die Schnittstellen der Restriktionsenzyme Not I und BamH I, die im Polylinker beider Vektoren vorkommen. Für die Transfektion der COS-7-Zellen wurde der Expressionsvektor mit dem PCR-Produkt als Insert über Anionenaustausch-Chromatographie (Qiagen) im präparativen Maßstab hergestellt.

Alle für die Klonierung verwendeten Methoden sind ausführlich beschrieben in J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis (1989), Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, USA.

Die COS-7-Zellen wurden in DMEM-Medium mit 10 % FCS unter Standardbedingungen kultiviert. Pro Zellkulturflasche wurden 30 ml Kulturmedium berechnet. Für die Transfektion wurden Zellen bei ca. 50 % Konfluenz verwendet, die am Vortag frisch gesplittet worden waren. Als Transfektionsreagenz wurde DOTAP (Boehringer) verwendet. 40 µl DNA-Lösung (0,5 µg / ml) wurden mit 110 µl 20 mM HEPES (pH 7,4) gemischt. Außerdem wurden 100 µl DOTAP mit 230 µl 20 mM HEPES (pH 7,4) in einem Polystyrol-Reaktionsgefäß gemischt. Dann wurde die DNA-Lösung zu der DOTAP-Lösung zupipettiert und 15 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde der Ansatz mit 20 ml Kulturmedium gemischt und das Medium der COS-7-Zellen durch dieses Gemisch ersetzt. Am folgenden Tag

wurden die Zellen mit frischem Medium in neue Zellkulturflachen transferriert. Nach weiterer 48stündiger Inkubation wurden die transfizierten COS-7-Zellen geerntet. Dazu wurden die Zellen abgeschabt und dreimal durch Zentrifugation in Assay-Puffer (100 mM TrisHCl (pH 7,5), 1 mM $MnCl_2$) gewaschen. Die Zellen wurden in einem minimalen Volumen Assay-Puffer resuspendiert und durch dreimaliges Einfrieren (in flüssigem Stickstoff) und Auftauen aufgeschlossen. Zellfragmente wurden in einem 1.5 ml Reaktionsgefäß abzentrifugiert (13 000 rpm, 10 min, 4 °C) und der Überstand direkt für die Messung der Enzymaktivität oder zur Aufreinigung des Enzyms verwendet.

Beispiel 2

Reinigung der rekombinanten DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum*

Zur genaueren Charakterisierung wurde die in COS-7-Zellen exprimierte rekombinante DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* zur weitgehenden Homogenität aufgereinigt. Die Reinigung erfolgte über einen affinitätschromatographischen und einen gelpermeationschromatographischen Schritt.

Zur Herstellung einer geeigneten Affinitätschromatographiesäule wurden zunächst Antikörper gegen die DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* hergestellt. Dazu wurden aus der von der DNA-Sequenz abgeleiteten Aminosäuresequenz solche Abschnitte ausgewählt, für die eine besonders hohe antigene Wirkung vorausgesagt werden konnte. Entsprechende Peptide wurden synthetisiert und für die Immunisierung von Kaninchen eingesetzt. Die Qualität der erhaltenen Antiseren wurde sowohl anhand ihrer Reaktivität mit den synthetischen

Peptiden, als auch durch Western blot-Analysen bestätigt. Für die Western blot-Analysen (BM Western Blotting Kit, Boehringer) wurden Extrakte aus *P. falciparum* und rekombinanten COS-Zellen verwendet.

Zur Herstellung der Affinitätschromatographie-Säule wurde das Antiserum zur Beseitigung niedermolekularer Amine gegen PBS dialysiert. Die Antikörper wurden dann an Protein A-Sepharose gebunden und durch Cross-linking mit DMP kovalent gekoppelt (IgG Orientation Kit, Pierce). Der Proteinextrakt wurde wie in Beispiel 1 beschrieben aus 55 Zellkulturflächen mit transfizierten COS-7-Zellen gewonnen und auf die mit Assay-Puffer äquilibrierte Säule geladen. Nach exzessivem Waschen mit Assay-Puffer wurde die Säule mit Elutions-Puffer (100 mM GlycinHCl (pH 2,8), 0.4 % CHAPS) eluiert. Das Eluat wurde sofort mit 1 M TrisHCl (pH 7,5) neutralisiert. Die Hauptfraktionen wurden durch Western blot-Analyse identifiziert. Dazu wurden für die Detektion biotinylierte Antikörper verwendet, um eine Störung durch von der Säule in geringer Menge eluierte Antikörper zu vermeiden. Die Hauptfraktionen wurden vereinigt, gegen Assay-Puffer dialysiert und durch Ultrafiltration (30 kDa, Amicon) konzentriert. Die weitere Reinigung erfolgte durch Gelpermeationsschromatographie (Superdex 200, Pharmacia) mit Assay-Puffer als Start- und Elutions-Puffer. Die Hauptfraktionen wurden wie oben beschrieben identifiziert, vereinigt und konzentriert, mit 20 % Glycerin versetzt und bei -70°C eingefroren. Durch SDS-PAGE (12 % Acrylamid) unter reduzierenden Bedingungen und Silberfärbung (Gelcode Colour Silver Stain Kit, Pierce) wurde die gereinigte DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* als einheitliche Bande bei 54 kDa dargestellt.

Beispiel 3

Bestimmung der Aktivität des gereinigten Enzyms und Screening nach Inhibitoren

Die DOXP-Reductoisomerase-Aktivität des gereinigten Enzyms wurde in einem *in vitro*-Versuchssystem bestätigt. Für einen typischen Versuchsansatz wurden 100 µl Assay-Puffer mit 0,3 mM NADPH, 0,3 mM DOXP und 10 µg rekombinantem Enzym verwendet. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von DOXP zum kompletten Ansatz gestartet. Die Oxidation von NADPH wurde photometrisch bei 340 nm in Mikroquarzküvetten bei 37°C verfolgt. Dieses Versuchssystem wurde verwendet, um die Inhibition der rekombinanten DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* durch verschiedene Substanzen zu zeigen. Nach Zugabe von 1 µM 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz und 1 µM 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz zum Reaktionsansatz war keine Veränderung der Absorption bei 340 nm zu beobachten. Unter diesen Bedingungen wurde die DOXP-Reductoisomerase von *P. falciparum* vollständig inhibiert.

Beispiel 4

Test der Wirksamkeit der Substanzen gegen Malaria *in vivo*

Die verschiedenen Derivate wurden nach dem modifizierten Peters' Test getestet. Die Substanzen wurden dabei in einem Viertel der halblethalen Dosis (LD50) appliziert. Bei dem Versuchsansatz wurden zehn Mäuse mit *Plasmodium vinckei*, dem Erreger der Mäusemalaria, infiziert. Nach Bestätigung der Infektion durch Blutuntersuchung erfolgte die Behandlung in vier Mäusen. Als Kontrolle dienten sechs Mäuse, die nicht behandelt wurden. Die Behandlung mit 1-1000 mg/kg/d ,

3-(N-Formyl-N-Hydroxylamino)-propylphosphonsäuremononatriumsalz über 3 Tage führte zu einer Abtötung der Parasiten im Blut der Mäuse. Die behandelte Gruppe war bereits nach einem Tag frei von lebenden Parasiten. Die Kontrollmäuse mußten am Tag 5 nach Infektion bei einer Parasitämie von > 80% getötet werden. Die behandelten Mäuse waren auch 8 Wochen nach Behandlungsende immer noch frei von Parasiten. Weitere Experimente zeigten eine Wirksamkeit von 50 mg/kg/d 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz in Mäusen mit einer Parasitämie von 80%. Auch diese Mäuse waren nach 1 Tag frei von lebenden Parasiten. Die weiteren Ergebnisse für 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz und 3-(N-Acetyl-N-hydroxylamino)-propyl-phosphonsäure-mononatriumsalz sind in Figur 5 dargestellt.

Beispiel 5

Schutzwirkung vor Malaria beim Versuch mit infizierten Mäusen

Die Wirksamkeit der Verbindungen in vivo gegenüber Malaria wurde unter Heranziehen von 20 bis 25 g schweren männlichen Mäusen (BALB/c-Stamm) getestet. Einen Tag vor der Infektion wurden vier Mäuse intraperitoneal mit 50 mg/kg 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäure-mononatriumsalz behandelt. Die Mäuse wurden dann mit *Plasmodium vinckei* infiziert. Mäuse, die nicht mit der Substanz vorbehandelt wurden, dienten als Kontrolle. Es konnte in den behandelten Mäusen keine Infektion nachgewiesen werden, während die Kontrollmäuse nach 5 Tagen mit einer Parasitämie über 80% getötet werden. Die behandelten Mäuse waren auch 8 Wochen nach der Infektion frei von Parasiten.

Beispiel 6

In vitro Inhibition des Wachstums von Malaria Parasiten
Zum Prinzip der IC₅₀-Bestimmung (die Konzentration, bei der die Vitalität der Parasiten um die Hälfte reduziert wird)

Zur Bestimmung der IC₅₀-Werte werden die Malariaparasiten zunächst für einen vollständigen 48-Stunden-Zyklus in Gegenwart von Inhibitoren kultiviert, in den anschließenden 24 Stunden wurde die Überlebensrate durch [³H]-Hypoxanthin-Einbau gemessen. Auf einer Mikrotiterplatte wird eine Verdünnungsreihe von 3-(N-Formyl-N-hydroxylamino)-propylphosphonsäuremononatriumsalz in 10-fach konzentrierten 20- μ l-Aliquots vorgelegt. Dann werden zu jedem Well 180 μ l Parasitensuspension in Kulturmedium zugefügt. Es werden asynchrone Kulturen mit ca. 0,4% Parasitämie und 2 % Hämatokrit verwendet. Anschließend werden die Mikrotiterplatten für 48 h inkubiert. Dann werden zu jedem Well 30 μ l [³H]-Hypoxanthin zugefügt. Nach 24-stündiger Inkubation wurden die Zellen geerntet und die inkorporierte Radioaktivität wurde gemessen. In den Figuren 6a, 6b und 6c sind die Ergebnisse mit den Stämmen HB3, A2 und Dd2 mit bekannten Resistenzen gegen andere Malaria-Medikamente dargestellt. In beiden Stämmen ergibt sich ein IC-50-Wert von unter 0,5 μ M. Die Resistenzen dieser Stämme sind:

Plasmodium falciparum HB3 (Honduras) ist gegen Pyrimethamin resistent.

Plasmodium falciparum Dd2 (Indochina) ist gegen Cloroquin, Chinin, Pyrimethamin, Cycloguanil und Sulfadoxin resistent.

Plasmodium falciparum A2 (Gambia) ist gegen Chloroquin und Cycloguanil resistent.

Es wurden keine Kreuzresistenzen mit Anti-Malaria-Mitteln gefunden.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Auffinden von chemischen Wirkstoffen, die zur Therapie von Infektionskrankheiten, hervorgerufen durch ein- oder mehrzellige Parasiten geeignet sind, dadurch gekennzeichnet, daß man Proteine, die am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg beteiligt sind, oder deren gleichwirkende Derivate mit den auf ihre Wirksamkeit gegenüber Parasiten zu untersuchenden Wirkstoffen in Berührung bringt und die Wirkstoffe, die die Proteine oder deren Derivate inhibieren, auswählt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Proteine an mindestens einem der folgenden Schritte a)-i),
 - a) Umsetzung von Glycerinaldehyd und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose,
 - b) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu Isopentenylidiphosphat,
 - c) Bildung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - d) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - e) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat
 - f) Bildung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - g) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - h) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - i) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat zu Isopentenylidiphosphatbeteiligt sind.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff die Produktion der beteiligten Enzyme oder der beteiligten Co-Faktoren, insbesondere den Umsatz des Enzyms 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase oder 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase hemmt, oder den Abbau der beteiligten Enzyme oder beteiligten Co-Faktoren fördert.
4. Protein mit oder ohne 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase Aktivität, welches am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg beteiligt ist und a) codiert wird von der in Figur 1b und 2b gezeigten DNA-Sequenz oder b) codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in Figur 1b oder 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der für das reife Protein codiert, hybridisieren.
5. Protein mit oder ohne 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase Aktivität, das am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweges beteiligt ist, dadurch gekennzeichnet, daß es a) codiert wird von der in Figur 1a und 2a gezeigten DNA-Sequenz oder b) codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in Figur 1a oder 2a gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der für das reife Protein codiert hybridisieren.
6. Protein nach den Ansprüchen 4 oder 5 und weitere Proteine, die am 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweges beteiligt sind, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus den Kulturüberständen von Parasiten oder aus den aufgeschlossenen Parasiten durch Aufreini-

gung über chromatographische und elektrophoretische Techniken erhältlich sind.

7. Protein nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß es a) das Produkt einer prokaryontischen oder eukaryontischen Expression einer exogenen DNA ist, b) codiert wird von den Sequenzen 1a, 1b, 2a oder 2b oder codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in den Figuren 1a, 1b, 2a oder 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der das reife Protein codiert, hybridisieren, oder c) codiert wird von DNA-Sequenzen, die ohne Degeneration des genetischen Codes mit den in b) definierten Sequenzen hybridisieren würden und für ein Polypeptid mit entsprechender Aminosäuresequenz codieren.
8. Protein gemäß einem der vorangehenden Ansprüche 4 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß es aus den Aminosäuren der Sequenzen 2a, 2b, 3a oder 3b besteht.
9. Protein nach einem der Ansprüche 4 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Protein 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase oder 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Redukto-isomerase ist.
10. Nukleinsäure, welche ein Protein gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9 codiert, dadurch gekennzeichnet, daß sie ausgewählt ist aus der Gruppe a) der in den Figuren 1a, 1b, 2a, 2b gezeigten DNA-Sequenzen oder der komplementären DNA-Sequenzen, b) Nukleinsäuresequenzen, die mit der Sequenz von a) hybridisieren, c) Nukleinsäuresequenzen, die ohne die Degeneration des genetischen Codes mit ei-

ner der in a) oder b) genannten Sequenzen hybridisieren würden.

11. DNA, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Sequenz aufweist, ausgewählt aus der Gruppe, die aus der in Figur 1a gezeigten Sequenz, der in Figur 1b gezeigten Sequenz, der in Figur 2a gezeigten Sequenz und der in Figur 2b gezeigten Sequenz besteht.
12. Rekombinanter Expressionsvektor, der DNA enthält, die ein Protein nach den Ansprüchen 4 bis 9 codiert und in einem transformierten Mikroorganismus oder einem transformierten eukaryontischen Zelle, oder in einem Tier oder eine Pflanze die proteincodierende DNA exprimiert.
13. Wirtszelle, insbesondere prokaryontische Wirtszelle, eukaryontische Wirtszelle, Tiere und Pflanzen, welche mit einer DNA, die ein Protein nach den Ansprüchen 4 bis 9 codiert, transfiziert ist und das genannte Protein produzieren kann.
14. Wirtszelle nach Anspruch 13, die E. coli oder eine Säugerzelllinie ist.
15. Verwendung von DNA, die für ein Protein nach den Ansprüchen 4 bis 9 codiert, zur Transfektion eines prokaryontischen oder eukaryontischen Organismus.
16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Protein aus Parasiten oder aus Kulturüberständen von Parasiten-Kulturen über chromatographische und elektrophoretische Techniken gewonnen wird.

17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3 und 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Protein durch Expression der DNA, die ein Protein nach einem der Ansprüche 4 bis 9 codiert, in einer geeigneten Wirtszelle und Isolierung des Proteins aus der Wirtszelle oder aus dem Kulturüberstand der Wirtszelle rekombinant hergestellt wird.
18. Verwendung eines Proteins aus dem 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg gemäß einem der Ansprüche 4 bis 8 als Antigen oder Immunogen zur Herstellung von Antikörpern, die an dieses Protein binden.
19. Antikörper gegen ein Protein aus dem 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweg gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9, erhältlich durch in-vitro-Immunisierungstechniken oder durch Immunisierung eines Tieres mit einem Protein gemäß einem der vorangehenden Ansprüche und Gewinnung der Antikörper aus dem Serum oder aus den Milzzellen der immunisierten Tiere.
20. Verwendung eines Proteins gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9 zur Identifizierung von antiparasitär wirkenden Stoffen.
21. Verwendung eines Antikörpers gemäß Anspruch 19 zur Identifizierung eines antiparasitär wirkenden Stoffes.
22. Verfahren zum Nachweis von Nukleinsäuren, welche ein Protein gemäß einem der Ansprüche 4 bis 9 codieren, dadurch gekennzeichnet, daß die zu untersuchende Probe mit einer Nukleinsäuresonde inkubiert wird, welche aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus a) der in den Figuren 1a

und 1b gezeigten DNA-Sequenzen oder der dazu komplementären Sequenz, b) Nukleinsäuren, die mit einer der Sequenzen von a) hybridisieren bestehen, die Nukleinsäuresonde mit der Nukleinsäure der Probe inkubiert wird und die Hybridisierung ggf. über einen weiteren Bindepartner von Nukleinsäuresonde nachgewiesen wird.

23. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß die nachzuweisende Nukleinsäure vor dem Nachweis amplifiziert wird.
24. Testsysteme unter Verwendung eines Proteins gemäß einem der vorangehenden Ansprüche zur Identifizierung eines antiparasitär wirkenden Stoffes.
25. Wirkstoff zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten, dadurch gekennzeichnet, daß er unter Verwendung eines Testsystems nach Anspruch 24 identifiziert wird.
26. Wirkstoff zur Herstellung eines Herbizids oder eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch Bakterien, dadurch gekennzeichnet, daß er unter Verwendung eines Testsystems nach Anspruch 24 identifiziert wird.
27. Wirkstoff zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten, dadurch gekennzeichnet, daß er die Enzyme oder Co-Faktoren des 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweges hemmt.

28. Wirkstoff nach Anspruch 25 oder 27, dadurch gekennzeichnet, daß er mindestens einen der folgenden Schritte a)-i),
- a) Umsetzung von Glycerinaldehyd und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose,
 - b) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu Isopentenylidiphosphat,
 - c) Bildung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - d) Umsetzung von Glycerinaldehyd-3-Phosphat und Pyruvat zu 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat,
 - e) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat
 - f) Bildung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - g) Umsetzung von 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - h) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat,
 - i) Umsetzung von 2-C-Methyl-D-erythritol-4-Phosphat zu Isopentenylidiphosphat hemmt.
29. Wirkstoff nach Anspruch 25, 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff die Produktion der beteiligten Enzyme oder der beteiligten Co-Faktoren, insbesondere den Umsatz des Enzyms 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Synthase oder 1-Desoxy-D-xylulose-5-Phosphat-Reduktoisomerase hemmt, oder den Abbau der beteiligten Enzyme oder beteiligten Co-Faktoren fördert.
30. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 25 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff 3-(N-acetyl-N-hydroxyamino)-propylphosphonat oder 3-(N-formyl-N-hydroxyamino)propylphosphonat ist.

31. Verwendung eines Wirkstoffs nach Anspruch 25, 27 bis 30 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Infektionskrankheiten verursacht durch ein- oder mehrzellige Parasiten, insbesondere von Malaria, der Schlafkrankheit und der Leishmaniosen.
32. Verwendung nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, daß das Arzneimittel ferner einen oder mehrere Bestandteile der Gruppe aufweist, die aus Hemmern der Fettstoffwechselwege, der Cholesterinsynthese, der Cholesterinaufnahme besteht.
33. Verwendung nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, daß der Hemmer der Fettstoffwechselwege ein HMG-CoA-Reduktase-Hemmer oder ein HMG-CoA-Synthase-Hemmer, insbesondere Lovastatin, Mevastatin, Compactin, Simvastatin, Pravastatin, Atorvastatin, Fluvastatin und Cerivastatin, ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ATGAAGAAATATATTTTATATATATTTTTCTTCATCACAAT
AACTATTAATGATTTAGTAATAAATAACATCAAAATGTGTTTCCATTG
AAAGAAGAAAAATAACGCATATATAAATTATGGTATAGGATATAATGGA
CCAGATAATAAAATAACAAAGAGTAGAAGATGTAAAAGAATAAAGTTATG
CAAAAAGGATTTAATAGATATTGGTGCAATAAAGAAACCAATTAATGTAG
CAATTTTTGGAAGTACTGGTAGTATAGGTACGAATGCTTTAAATATAATA
AGGGAGTGTATAAAAATTGAAAATGTTTTTAATGTAAAGCATTGTATGT
GAATAAGAGTGTGAATGAATTATATGAACAAGCTAGAGAATTTTTACCAG
AATATTTGTGTATACATGATAAAAGTGTATATGAAGAATTAAAAGAACTG
GTAAAAAATATAAAAAGATTATAAACCTATAATATTGTGTGGTGATGAAGG
GATGAAAGAAATATGTAGTAGTAATAGTATAGATAAAATAGTTATTGGTA
TTGATTCTTTTCAAGGATTATATTCTACTATGTATGCAATTATGAATAAT
AAAATAGTTGCGTTAGCTAATAAAGAATCCATTGTCTCTGCTGGTTTTCTT
TTTAAAGAAATTATTAAATATTCATAAAAATGCAAAGATAATACCTGTTG
ATTCAGAACATAGTGCTATATTTCAATGTTTAGATAATAATAAGGTATTA
AAAACAAAATGTTTACAAGACAATTTTTCTAAAATTAACAATATAAATAA
AATATTTTTTATGTTTCATCTGGAGGTCCATTTCAAATTTAACTATGGACG
AATTAAAAAATGTAACATCAGAAAATGCTTTAAAGCATCCTAAATGGAAA
ATGGGTAAGAAAATAACTATAGATTCTGCAACTATGATGAATAAAGGTTT
AGAGGTTATAGAAACCCATTTTTTTATTTGATGTAGATTATAATGATATAG
AAGTTATAGTACATAAAGAATGCATTATACATTCTTGTGTTGAATTTATA
GACAAATCAGTAATAAGTCAAATGTATTATCCAGATATGCAAATACCCAT
ATTATATTCTTTAACATGGCCTGATAGAATAAAAACAAATTTAAAACCTT
TAGATTTGGCTCAGGTTTCAACTCTTACATTTCATAAACCTTCTTTAGAA
CATTTCCCGTGTATTAAATTAGCTTATCAAGCAGGTATAAAAGGAACTT
TTATCCAAGTGTACTAAATGCGTCAAATGAAATAGCTAACAAGTATTTT
TGAATAATAAAAATTAAATATTTTGATATTTCTCTATAATATCGCAAGTT
CTTGAATCTTTCAATTCTCAAAGGTTTCGGAAAATAGTGAAGATTTAAT
GAAGCAAATTCTACAAATACATTCTTGGGCCAAAGATAAAGCTACCGATA
TATACAACAAACATAATTCTTCATAG

FIG. 1a

THIS PAGE BLANK (USPTO)

GGTAATATACGTATAATATATATATAATATATTCTTACGTATGTATCATT
TATGAATCATAATAATATTCTAAATTTACCTTCCGTTTTTGCTCGATCTT
CTCATTTTTCGTTTCAGCTTTTATCAATGATTTTTTAATTATGTGTTTTTTA
AGAACTTTGTACCAGTTGTTCTATACATTCTCCTTATAATATATATTAAC
TTAAATGGCATGAATAATAAAAATCAAATAAAAACAGAAAAAATTTATAT
AAAGAAATTGAATAGGTTGTCAAGGAAAAATTCGTTATGTAGTTCTAAAA
ATAAAATAGCATGCTTGTTTCGATATAGGAAATGATGATAATAGAAATACG
ACATATGGCTATAATGTGAATGTTAAAAATGATGATATTAATTCCTTACT
AAAAAATAATTATAGTAATAAATTGTACATGGATAAGAGGAAAAATATTA
ATAATGTAATTAGTACTAATAAAATATCTGGGTCCATTTCAAATATTTGT
AGTAGAAATCAAAAAGAAAATGAACAAAAAAGAAATAAACAAAGATGTTT
AACTCAATGTCACACTTATAATATGTCACATGAACAGGACAACTAGCTA
ATGATAATAATAGGAATAATAAAAAGAATTTTAATTTATTATTTATAAAT
TATTTTAATTTGAAACGAATGAAAAATTCCTCTCTAAATAAAGACAATTT
CTTTTACTGTAAAGAAAAAAATTTGTCATTTCTGCATAAGGCCTATAAAA
AAAAAATTGCACTTTTCAAATTTATAGTTTAAAAAGAAAATCTAATCGT
GATTCACATAAATTGTTTTCTGGAGAATTTGACGATTATACAAATAATA
TGCTTTATATGAATCCGAAAAAAAGAATACATTACACTAAATAATAATA
ATAAAAATAATAATAATAAAAATAATGATAATAAAAATAATGATAATAAT
GATTATAATAATAATAATAGTTGTAATAATTTAGGAGAGAGATCCAATCA
TTATGATAAATTATGGTGGAGATAATAATAATCCATGTAATAATAATAATG
ACAAATATGATATAGGAAAATATTTCAAACAGATTAATACCTTTATTAAT
ATTGATGAATATAAAACTATATATGGTGATGAAATATATAAAGAAATATA
TGAATATATGTAGAAAGAAATATTCCTGAATATTATGAACGAAAATATT
TTTCAGAAGATATTAAAAAGAGTGTCTATTTGATATAGATAAATATAAT
GATGTCGAATTTGAAAAAGCTATAAAAAGAAGAATTTATAAATAATGGAGT
TTATATTAATAATATAGATAATACATATTATAAAAAAGAAAATATTTTAA
TAATGAAAAAGATATTACATTATTTCCCATTATTAAAATTAATTAATAAT
CCATCAGATTTAAAAAAGTTAAAAAACAATATTTACCTTTATTAGCACA
TGAATTAAAAATATTTTTATTTTTTATTGTAAATATAACAGGAGGTCATT
TTTCCTCTGTTTTAAGCTCTTTAGAAATTCAATTATTATTATTGTATATT
TTTAATCAACCATATGATAATGTTATATATGATATAGGACATCAAGCATA
TGTAACATAAGATATTGACCGGAAGAAAACCTATTATTTCTATCATTAAAGAA
ATAAAAAAGGTATTAGTGGATTCCTAAATATTTTTTGAAAGTATTTATGAT
AAATTTGGGGCTGGTCACAGTTCCACTTCATTAAGTGCTATACAAGGATA
TTATGAAGCCGAGTGGCAAGTGAAGAATAAAGAAAAATATGGAAATGGAG
ATATAGAAATAAGTGATAACGCAAATGTCACGAATAATGAAAGGATATTT
CAAAAAGGAATACACAATGATAATAATTAACAATAATATTAATAATAA
TAATTATATCAATCCTTCAGATGTGGTAGGAAGAGAAAATACGAATGTAC
CAAATGTACGAAATGATAACCATAACGTGGATAAAGTACACATTGCTATT
ATAGGAGATGGTGGTTTAACAGGTGGAATGGCATTAGAAGCGTTAAATTA
TATTTCAATCTTGAATCTAAAATTTTAATTATTTATAATGATAACGGAC
AAGTTTCTTTACCAACAAATGCCGTAAGTATATCAGGTAATAGACCTATA
GGTTCTATATCAGATCATTTACATTATTTTGTCTTAATATAGAAGCAAA
TGCTGGTGATAATAAATTATCGAAAAATGCAAAAGAGAATAACATTTTTG
AAAATTTGAATTATGATTATATTGGTGTGTGAATGGTAATAATACAGAA

Fig.1b Teil 1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

GAGCTCTTTAAAGTATTAAATAATATAAAAAGAAAATAAATTAAAAAGAGC
TACTGTTCTTCATGTACGTACAAAAAATCGAATGATTTTATAAATTCAA
AGAGTCCAATAAGTATATTGCACTCTATAAAGAAAAATGAGATTTTCCCT
TTCGATACCACTATATTAAATGGAAATATTCATAAGGAGAACAAAGATAGA
AGAAGAGAAAAATGTGTCTTCATCTACAAAGTATGATGTAAATAATAAGA
ATAATAAAAAATAATGATAATAGTGAAATTATAAAATATGAAGATATGTTT
TCAAAAGAGACGTTACAGATATATATACAAATGAAATGTTAAATATTT
AAAGAAAGATAGAAATATAATATTCCTATCTCCCGCTATGTTAGGAGGAT
CAGGATTGGTTAAAATTAGTGAGCGTTATCCAAATAATGTATATGATGTA
GGTATAGCAGAACACATTCTGTAACCTTTCGCAGCAGCTATGGCAATGAA
TAAGAAATTAAAAATACAATTATGTATATATTTCGACCTTTTTACAAAGAG
CATATGATCAAATTATACATGATCTTAATTTACAAAATATACCTTTAAAG
GTTATAATTGGAAGAAGTGGATTAGTAGGAGAGGATGGGGCAACACATCA
AGGTATATATGATTTATCTTATCTTGGGACACTTAACAATGCATATATAA
TATCTCCAAGTAATCAAGTTGATTTGAAAAGAGCTCTTAGGTTTGCTTAT
TTAGATAAGGACCATTCTGTGTATATACGTATACCCAGAATGAACATATT
AAGTGATAAGTACATGAAAGGATATTTGAACATTCATATGAAAAATGAGA
GCAAAAATATCGATGTAAACGTGGATATAAACGATGATGTAGATAAATAT
AGTGAAGAATATATGGACGATGATAATTTTATAAAATCGTTTTATTGGAAA
ATCTAGAATTATTAAATGGATAATGAAAATAATAATACAAATGAACATT
ATTCAAGCAGAGGAGATACACAGACAAAAAAGTTTTGTATCTTT
AACATGGGTAGTATGCTTTTTAATGTAATTAATGCTATAAAAGAAATTGA
AAAAGAACAATATATTTACATAATTATTCTTTTCAATTGTTGATATGA
TATTTTTAAATCCTTTAGATAAAAAATATGATAGATCATGTAATAAAACAA
AATAAACATCAATATTTAATTACTTATGAAGATAATACTATAGGTGGTTT
TTCTACACATTTCAATAATTATTTAATAGAAAATAATTATATTACAAAAC
ATAACTTATATGTTTATAATATTTATTTATCTAATGAGCCAATTGAACAT
GCATCTTTTAAGGATCAACAAGAAGTCGTCAAATGGATAAATGTAGTCT
TGTCAATAGAATTAAAAATTATCTTAAAAATAATCCTACATGATGTAAGA
TAAATATATATTTCTAAAATTATTTTTTTTTTATACTTTAATGTGTACAA
TAAATATATATCTAAATATATTTTATTTGTACGCTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTAATTGTTATTTTTGTATAT

FIG.1b Teil 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

atgaagaaatatatatttatatatatatttttcttcatcacaaactattaatgatttagta
M K K Y I Y I Y F F F I T I T I N D L V
ataaataatacatcaaaatgtgtttccattgaaagaagaaaaataacgcataataaat
I' N N T S K C V S I E R R K N N A Y I N
tatgggtataggatataatggaccagataataaaaataacaaagagtagaagatgtaaaaga
Y G I G Y N G P D N K I T K S R R C K R
ataaagttatgcaaaaaggatttaatagatatgtgtgcaataaagaaaccaattaatgta
I K L C K K D L I D I G A I K K P I N V
gcaatttttgggaagtactggtagtataggtagcaatgctttaaatataataagggagtg
A I F G S T G S I G T N A L N I I R E C
aataaaattgaaaatgttttttaattgttaaagcattgtatgtgaataagagtgatgaatgaa
N K I E N V F N V K A L Y V N K S V N E
ttatatgaacaagctagagaatttttaccagaatatttgtgtatacatgataaaagtgt
L Y E Q A R E F L P E Y L C I H D K S V
tatgaagaattaaaagaactggtaaaaaatataaaagattataaacctataatattgtgt
Y E E L K E L V K N I K D Y K P I I L C
ggtgatgaagggatgaaagaaatatgtagtagtaatagtagataaaatagttattgg
G D E G M K E I C S S N S I D K I V I G
attgattcttttcaaggattatattctactatgtatgcaattatgaataataaaatagtt
I D S F Q G L Y S T M Y A I M N N K I V
gcggttagctaataaagaatccattgtctctgctggtttctttttaagaaattattaaat
A L A N K E S I V S A G F F L K K L L N
attcataaaaaatgcaaagataataacctgttgattcagaacatagtgctatatttcaatgt
I H K N A K I I P V D S E H S A I F Q C
ttagataataataaggtatttaaaaacaaaatgtttacaagacaatttttctaaaattaac
L D N N K V L K T K C L Q D N F S K I N
aatataaataaaaatatttttatgttcatctggagggtccatttcaaaatttaactatggac
N I N K I F L C S S G G P F Q N L T M D
gaattaaaaaatgtaacatcagaaaatgctttaagcatcctaataatggaaaatgggtaag
E L K N V T S E N A L K H P K W K M G K
aaaataactatagattctgcaactatgatgaataaagggttagagggttatagaaacccat
K I T I D S A T M M N K G L E V I E T H
tttttatttgatgtagattataatgatatagaagttatagtagacataaagaatgcattata
F L F D V D Y N D I E V I V H K E C I I
cattcttgtgttgatttatagacaaatcagtaataagtcaaattgtattatccagatatg
H S C V E F I D K S V I S Q M Y Y P D M
caaatacccatatttatattctttaacatggcctgatagaataaaaacaaatttaaaacct
Q I P I L Y S L T W P D R I K T N L K P
ttagatttggctcagggtttcaactcttacatttcataaaccttctttagaacatttcccg
L D L A Q V S T L T F H K P S L E H F P
tgtattaaattagcttatcaagcagggtataaaaggaaacttttatccaactgtactaat
C I K L A Y Q A G I K G N F Y P T V L N
gcggtcaaattgaaatagctaacaacttatttttgaataataaaaattaaatattttgatatt
A S N E I A N N L F L N N K I K Y F D I
tcctctataatatcgcaagttcttgaatctttcaattctcaaagggtttcggaataatagt
S S I I S Q V L E S F N S Q K V S E N S
gaagatttaattgaagcaaattctacaaatacattcttgggccaaagataaagctaccgat
E D L M K Q I L Q I H S W A K D K A T D
atatacaacaaacataattcttcatag
I Y N K H N S S -

FIG. 2a

THIS PAGE BLANK (USPTO)

tcgatcttctcatttttcgtttcagcttttatcaatgattttttaattatgtgttttttaag
M I F N Y V F F K
aactttgtaccagttgttctatacatttctccttataatatattaactttaaatggcatg
N F V P V V L Y I L L I I Y I N L N G M
aataataaaaaatcaaataaaaaacagaaaaaatttatataaagaaattgaataggttgta
N N K N Q I K T E K I Y I K K L N R L S
aggaaaaattcgtttatgttagttctaaaaataaaaatagcatgcttggttcgatataggaaat
R K N S L C S S K N K I A C L F D I G N
gatgataatagaaatacgacatatggctataatgtgaatgttaaaaatgatgatattaat
D D N R N T T Y G Y N V N V K N D D I N
tccttactaaaaaataattatagtaataaattgtacatggataagaggaaaaatattaat
S L L K N N Y S N K L Y M D K R K N I N
aatgtaattagtagtactaataaaaatatctgggtccatttcaaataatttgtagtagaaatcaa
N V I S T N K I S G S I S N I C S R N Q
aaagaaaatgaacaaaaaagaaataaacaagatgttttaactcaatgtcacactttataat
K E N E Q K R N K Q R C L T Q C H T Y N
atgtcacatgaacaggacaaactagctaataatgataataataggaataataaaaaagaatttt
M S H E Q D K L A N D N N R N N K K N F
aattttatttttataaaattatttttaatttgaaacgaatgaaaaatttctcttctaaataaa
N L L F I N Y F N L K R M K N S L L N K
gacaattttcttttactgtaaagaaaaaaaattgtcattttctgcataaggcctataaaaaa
D N F F Y C K E K K L S F L H K A Y K K
aaaaattgcactttttcaaaatttatagttttaaaaaagaaaatctaatacgtgattcacataaa
K N C T F Q N Y S L K R K S N R D S H K
ttgtttttctggagaatttgacgattatacaaaataataatgcttttatatgaatccgaaaaa
L F S G E F D D Y T N N N A L Y E S E K
aaagaatacattacactaaataataataaaaaataataataaaaaataatgataat
K E Y I T L N N N N K N N N N K N N D N
aaaaataatgataataatgattataataataataatagttgtaataatttaggagagaga
K N N D N N D Y N N N N S C N N L G E R
tccaatcattatgataattatgggtggagataataataatccatgtaataataataatgac
S N H Y D N Y G G D N N N P C N N N N D
aaatatgatataggaaaaatatttcaaacagattaataacctttattaatattgatgaatat
K Y D I G K Y F K Q I N T F I N I D E Y
aaaactatatatgggtgatgaaatatataaagaaatatatgaactatatgtagaagaaat
K T I Y G D E I Y K E I Y E L Y V E R N
attcctgaatattatgaacgaaaatatttttccagaagatatttaaaaagagtgtcctatttt
I P E Y Y E R K Y F S E D I K K S V L F
gatatagataaaatataatgatgtcgaattttgaaaaagctataaaagaagaattttataaat
D I D K Y N D V E F E K A I K E E F I N
aatggagttttatattaataatataagataatacatattataaaaaagaaaatatttttaata
N G V Y I N N I D N T Y Y K K E N I L I
atgaaaaagatattacattatttccattatttaaaattaattaataatccatcagatttta
M K K I L H Y F P L L K L I N N P S D L
aaaaagttaaaaaaaacaatatattacctttatttagcacatgaattaaaaatattttttattt
K K L K K Q Y L P L L A H E L K I F L F
tttattgtaaatataacaggaggtcattttttcctctgttttaagctcttttagaaattcaa
F I V N I T G G H F S S V L S S L E I Q

FIG.2b Teil 1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ttattattattgtatatatttttaataccaacatgatgataatggttatatatgatataggacat
L L L L Y I F N Q P Y D N V I Y D I G H
caagcatatgtacataagatattgaccggaagaaaactattatttctatcattaagaaat
Q A Y V H K I L T G R K L L F L S L R N
aaaaaaggtattagtggattcctaataatatttttgaaagtatttatgataaatttggggct
K K G I S G F L N I F E S I Y D K F G A
ggtcacagttccacttcattaagtgtctatacaaggatattatgaagccgagtggaagt
G H S S T S L S A I Q G Y Y E A E W Q V
aagaataaagaaaaatatggaaatggagatatagaaataagtgataacgcaaatgtcacg
K N K E K Y G N G D I E I S D N A N V T
aataatgaaaggatatttcaaaaaggaatacacaaatgataataattaacaataatatt
N N E R I F Q K G I H N D N N I N N N I
aataataataattatatcaatccttcagatgtggttaggaagagaaaaatacgaatgtacca
N N N N Y I N P S D V V G R E N T N V P
aatgtacgaaatgataaccataacgtggataaagtagacattgctattataggagatggt
N V R N D N H N V D K V H I A I I G D G
ggtttaacaggtggaatggcattagaagcggttaatttatatttcattcttgaattctaaa
G L T G G M A L E A L N Y I S F L N S K
attttaattatttataatgataacggacaagtttctttaccaacaaatgccgtaagtata
I L I I Y N D N G Q V S L P T N A V S I
tcaggtaatagacctataggttctatatcagatcatttacattattttgttttctaata
S G N R P I G S I S D H L H Y F V S N I
gaagcaaatgctggtgataataaattatcgaaaaatgcaaaagagaataacatttttgaa
E A N A G D N K L S K N A K E N N I F E
aatttgaattatgattatatttggtgttgatggttaataatacagaagagctcttttaa
N L N Y D Y I G V V N G N N T E E L F K
gtattaaataataaaaagaaaaataaattaaaaagagctactgttcttcatgtacgtaca
V L N N I K E N K L K R A T V L H V R T
aaaaaatcgaatgattttataaattcaaagagtccaataagtatattgcactctataaag
K K S N D F I N S K S P I S I L H S I K
aaaaatgagattttccctttcgataccactatattaaatggaaatattcataaggagaac
K N E I F P F D T T I L N G N I H K E N
aagatagaagaagagaaaaatgtgtcttcatctacaaagtatgatgtaataataagaat
K I E E E K N V S S S T K Y D V N N K N
aataaaaaataatgataatagtgaattataaaatatgaagatatgttttcaaaagagacg
N K N N D N S E I I K Y E D M F S K E T
ttcacagatatatatacaaatgaaatgttaaaatattttaaagaaagatagaaatataata
F T D I Y T N E M L K Y L K K D R N I I
ttcctatctcccgctatgttaggaggatcaggattgggttaaaattagttagcggttatcca
F L S P A M L G G S G L V K I S E R Y P
aataatgtatatgatgtaggtatagcagaacaacattctgtaactttcgcagcagctatg
N N V Y D V G I A E Q H S V T F A A A M
gcaatgaataagaaattaaaaatacaattatgtatatattcgacctttttacaaagagca
A M N K K L K I Q L C I Y S T F L Q R A
tatgatcaaattatacatgatcttaattttacaaaatataaccttttaaaggttataattgga
Y D Q I I H D L N L Q N I P L K V I I G

FIG.2b Teil 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

agaagtggattagtaggagaggatggggcaacacatcaaggtatatatgattttatcttat
R S G L V G E D G A T H Q G I Y D L S Y
cttgggacacttaacaatgcatatataatatctccaagtaatcaagttgatttgaaaaga
L G T L N N A Y I I S P S N Q V D L K R
gctcttaggttttgcttatttagataaggaccattctgtgtatatacgtatacccagaatg
A L R F A Y L D K D H S V Y I R I P R M
aacatattaagtgataagtacatgaaaggatatttgaacattcatatgaaaaatgagagc
N I L S D K Y M K G Y L N I H M K N E S
aaaaatatcgatgtaaacgtggatataaacgatgatgtagataaatatagtgaagaatat
K N I D V N V D I N D D V D K Y S E E Y
atggacgatgataattttataaaaatcgttttattggaaaatctagaattattaaaaatggat
M D D D N F I K S F I G K S R I I K M D
aatgaaaataataatacaaatgaacattattcaagcagaggagatacacagacaaaaaaa
N E N N N T N E H Y S S R G D T Q T K K
aaaaaagtttgatatctttaacatgggtagtatgctttttaatgtaattaatgctataaaa
K K V C I F N M G S M L F N V I N A I K
gaaattgaaaaagaacaatatatttcacataattattctttttcaattgttgatatgata
E I E K E Q Y I S H N Y S F S I V D M I
tttttaaatccttttagataaaaaatatgatagatcatgtaataaaaacaaaataaacatcaa
F L N P L D K N M I D H V I K Q N K H Q
tatttaattactttatgaagataatactataggtgggtttttctacacatttcaataattat
Y L I T Y E D N T I G G F S T H F N N Y
ttaatagaaaataattatattacaaaacataactttatatgttcataatattttatttatct
L I E N N Y I T K H N L Y V H N I Y L S
aatgagccaattgaacatgcatctttttaaggatcaacaagaagtcgtcaaaatggataaa
N E P I E H A S F K D Q Q E V V K M D K
tgtagtcttgtcaatagaattaaaaattatcttaaaaataatcctacatgatgtaagata
C S L V N R I K N Y L K N N P T -

FIG.2b Teil 3

THIS PAGE BLANK (USPTO)

MKKYIYIYFFFITITINDLVINNTSKCVSIEERRKNNAYINY
GIGYNGPDNKITKSRRCKRIKLCKKDLIDIGAIKKPINVAIFGSTGSIGTNALNIIRECN
KIENVFNVKALYVNKSVNELYEQAREFLPEYLCIHDKSVYEELKELVKNIKDYKPIILCG
DEGMKEICSSNSIDKIVIGIDSFQGLYSTMYAIMNNKIVALANKESIVSAGFFLKLLNI
HKNAKIIPVDSEHSAIFQCLDNNKVLKTKCLQDNFSKINNINKIFLCSSGGPFQNLTMDE
LKNVTSENALKHPKWKMGKKITIDSATMMNKGLEVIETHFLFDVDYNDIEVIVHKECIIH
SCVEFIDKSVISQMYYPDMQIPILYSLTWPDRIKTNLKPLDLAQVSTLTFHKPSLEHFPC
IKLAYQAGIKGNFYPTVLNASNEIANNLFLNNKIKYFDISSIISQVLESFNSQKVSENSE
DLMKQILQIHSWAKDKATDIYNKHNS

FIG.3a

THIS PAGE BLANK (USPTO)

MIENYVFFK
NFVPVLYILLIIYINLNGMNNKNQIKTEKIYIKKLNRLSRKNSLCSSKNKIACLFIGN
DDNRNTTYGYNVNVKNDDINSLLKNYSNKLYMDKRKNINNVISTNKISGSISNICSRNQ
KENEQKRKNQORCLTQCHTYNMSHEQDKLANDNNRNNKKNFNLLFINYFNLKRMKNSLLNK
DNFFYCKEKKLSFLHKAYKKKNCTFQNYSLKRKSNRDSHKLFSGEFDDYTNNNALYESEK
KEYITLNNNNKNNNNNKNNDNKNNDNDYNNNNSCNNLGERSNHYDNYGGDNNNPCNNND
KYDIGKYFKQINTFINIDEYKTIYGDEIYKEIYELYVERNIPEYYERKYFSEDIKKSVL
DIDKYNDVEFEKAIKEEFINNGVYINNIDNTYYKKENILIMKKILHYFPLLKLINNPDL
KKLKKQYLPLLAHELKIFLFFIVNITGGHFSSVLSSLEIQLLLLYIFNQPYDNVIYDIGH
QAYVHKILTGRKLLFLSLRNKKGISGFLNIFESIYDKFGAGHSSTSLSAIQGYEAEWQV
KNKEYGNGDIEISDNANVTNNERIFQKGIHNDNNINNNINNNNYINPSDVVGRENTNVP
NVRNDNHNVDKVHIAIIGDGGLTGGMALALNYISFLNSKILIIYNDNGQVSLPTNAVSI
SGNRPIGSISDHLHYFVSNIEANAGDNKLSKNAKENNIFENLNYDYIGVVNGNNTTEELFK
VLNNIKENKLKRATVLHVRTKKSNDNFINSKSPISILHSIKKNEIFPFDTTILNGNIHKN
KIEEEKNVSSSTKYDVNNKNNKNNDNSEIIKYEDMFSKETFTDIYTNEMLKYLKKDRNII
FLSPAMLGGSGLVKISERYPNNVYDVGIAEQHSVTFAAAMAMNKKLKIQLCIYSTFLQRA
YDQIIHDLNLQNIPLKVIIGRSGLVGEDGATHQGIYDLSYLGTLNNAYIISPSNQVDLKR
ALRFAYLDKDHVYIRIPRMNILSDKYMKGYLNIHMKNESKNIDVNVDINDDVVDKYSEY
MDDDNFIKSFIGKSRIKMDNENNNNTNEHYSSRGDTQTKKKKVCIFNMGSMFLFNVAIAK
EIEKEQYISHNYSFSIVDMIFLNPLDKNMIDHVIKQNKHQYLITYEDNTIGGFSTHFNNY
LIENNYITKHNLYVHNIYLSNEPIEHASFKDQQEVVKMDKCSLVNRIKNYLKNNPT

FIG. 3b

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1 GATGAAATAT ATAAAGAAAT ATATGAACTA TATGTAGAAA GAAATATTCC
51 TGAATATTAT GAACGAAAAT ATTTTTCAGA AGATATTAAA AAGAGTGTCC
101 TATTTGATAT AGATAAATAT AATGATGTCG AATTTGAAAA AGCTATAAAA
151 GAAGAATTTA TAAATAATGG AGTTTATATT AATAATATAG ATAATACATA
201 TTATAAAAAA GAAAATATTT TAATAATGAA AAAGATATTA CATTATTTCC
251 CATTATTAAA ATTAATTAAT AATCCATCAG ATTTAAAAAA GTTAAAAAAA
301 CAATATTTAC CTTTATTAGC ACATGAATTA AAAATATTTT TATTTTTTAT
351 TGTAAATATA ACAGGAGGTC ATTTTTCCTC TGTTTTAAGC TCTTTAGAAA
401 TTCAATTATT ATTATTGTAT ATTTTAAATC AACCATATGA TAATGTTATA
451 TATGATATAG GACATCAAGC ATATGTACAT AAGATATTGA CCGGAAGAAA
501 ACTATTATTT CTATCATTAA GAAATAAAAA AGGTATTAGT GGATTCCTAA
551 ATATTTTTGA AAGTATTTAT GATAAATTTG GGGCTGGTCA CAGTTCCACT
601 TCATTAAGTG CTATACAAGG ATATTATGAA GCCGAGTGGC AAGTGAAGAA
651 TAAAGAAAAA TATGGAAATG GAGATATAGA AATAAGTGAT AACGCAAATG
701 TCACGAATAA TGAAAGGATA TTTCAAAAAG GAATACACAA TGATAATAAT
751 ATTAACAATA ATATTAATAA TAATAATTAT ATCAATCCTT CAGATGTGGT
801 AGGAAGAGAA AATACGAATG TACCAAATGT ACGAAATGAT AACCATAACG
851 TGGATAAAGT ACACATTGCT ATTATAGGAG ATGGTGGTTT AACAGGTGGA
901 ATGGCATTAG AAGCGTTAAA TTATATTTCA TTCTTGAATT CTAAAATTTT
951 AATTATTTAT AATGATAACG GACAAGTTTC TTTACCAACA AATGCCGTAA
1001 GTATATCAGG TAATAGACCT ATAGGTTCTA TATCAGATCA TTTACATTAT
1051 TTTGTTTCTA ATATAGAAGC AAATGCTGGT GATAATAAAT TATCGAAAAA
1101 TGCAAAAGAG AATAACATTT TTGAAAATTT GAATTATGAT TATATTGGTG
1151 TTGTGAATGG TAATAATACA GAAGAGCTCT TTAAAGTATT AAATAATATA
1201 AAAGAAAATA AATTAAAAAG AGCTACTGTT CTTCATGTAC GTACAAAAAA
1251 ATCGAATGAT TTTATAAATT CAAAGAGTCC AATAAGTATA TTGCACTCTA
1301 TAAAGAAAAA TGAGATTTTC CCGTTCGATA CCACTATATT AAATGGAAAT
1351 ATTCATAAGG AGAACAAGAT AGAAGAAGAG AAAAATGTGT CTTCATCTAC
1401 AAAGTATGAT GTAAATAATA AGAATAATAA AAATAATGAT AATAGTGAAA
1451 TTATAAAATA TGAAGATATG TTTTCAAAAG AGACGTTTAC AGATATATAT

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1501 ACAAATGAAA TGTTAAAATA TTAAAGAAA GATAGAAATA TAATATTCCT
1551 ATCTCCCGCT ATGTTAGGAG GATCAGGATT GGTAAAATT AGTGAGCGTT
1601 ATCCAAATAA TGTATATGAT GTAGGTATAG CAGAACAACA TTCTGTAAC
1651 TTCGCAGCAG CTATGGCAAT GAATAAGAAA TTAAAATAC AATTATGTAT
1701 ATATTCGACC TTTTACAAA GAGCATATGA TCAAAATATA CATGATCTTA
1751 ATTTACAAA TATACCTTTA AAGGTTATAA TTGGAAGAAG TGGATTAGTA
1801 GGAGAGGATG GGGCAACACA TCAAGGTATA TATGATTTAT CTTATCTTGG
1851 GACACTTAAC AATGCATATA TAATATCTCC AAGTAATCAA GTTGATTTGA
1901 AAAGAGCTCT TAGGTTTGCT TATTTAGATA AGGACCATTC TGTGTATATA
1951 CGTATACCCA GAATGAACAT ATTAAGTGAT AAGTACATGA AAGGATATTT
2001 GAACATTCAT ATGAAAAATG AGAGCAAAA TATCGATGTA AACGTGGATA
2051 TAAACGATGA TGATAGATAA TATAGTGAAG AATATATGGA CGATGATAAT
2101 TTTATAAAAT CGTTTATTGG AAAATCTAGA ATTATTAAAA TGGATAATGA
2151 AAATAATAAT ACAAATGAAC ATTATTCAAG CAGAGGAGAT ACACAGACAA
2201 AAAAAAAAAA AGTTTGTATC TTTAACATGG GTAGTATGCT TTTAATGTA
2251 ATTAATGCTA TAAAAGAAAT TGAAAAGAA CAATATATTT CACATAATTA
2301 TTCTTTTCA ATTGTTGATA TGATATTTTT AAATCCTTTA GATAAAAATA
2351 TGATA

FIG. 4a Teil 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10 30 50
GATGAAATATATAAAGAAATATATGAACTATATGTAGAAAGAAATATTCCTGAATATTAT
D E I Y K E I Y E L Y V E R N I P E Y Y

70 90 110
GAACGAAAATATTTTTCAGAAGATATTTAAAAGAGTGTCTTATTTGATATAGATAAATAT
E R K Y F S E D I K K S V L F D I D K Y

130 150 170
AATGATGTCGAATTTGAAAAAGCTATAAAAAGAAGATTTATAAATAATGGAGTTTATATT
N D V E F E K A I K E E F I N N G V Y I

190 210 230
AATAATATAGATAAATACATATTATAAAAAAGAAAATATTTTAATAATGAAAAAGATATTA
N N I D N T Y Y K K E N I L I M K K I L

250 270 290
CATTATTTCCCATTTATTAATAATTAATAATCCATCAGATTTAAAAAGTTAAAAAAA
H Y F P L L K L I N N P S D L K K L K K

310 330 350
CAATATTTACCTTTATTAGCACATGAATTAATAATATTTTATTTTATTGTAATATA
Q Y L P L L A H E L K I F L F F I V N I

370 390 410
ACAGGAGGTCATTTTCTCTGTTTTAAGCTCTTTAGAAATTCAATTATTATTATTGTAT
T G G H F S S V L S S L E I Q L L L L Y

430 450 470
ATTTTAAATCAACCATATGATAATGTTATATATGATATAGGACATCAAGCATATGTACAT
I F N Q P Y D N V I Y D I G H Q A Y V H

490 510 530
AAGATATTGACCGGAAGAAAACCTATTATTTCTATCATTAAGAAATAAAAAAGGTATTAGT
K I L T G R K L L F L S L R N K K G I S

550 570 590
GGATTCCTAAATATTTTGAAGTATTTATGATAAATTTGGGGCTGGTCACAGTTCCACT
G F L N I F E S I Y D K F G A G H S S T

610 630 650
TCATTAAGTGCTATACAAGGATATTATGAAGCCGAGTGGCAAGTGAAGAATAAAGAAAAA
S L S A I Q G Y Y E A E W Q V K N K E K

670 690 710
TATGGAAATGGAGATATAGAAATAAGTGATAACGCAAATGTCACGAATAATGAAAGGATA
Y G N G D I E I S D N A N V T N N E R I

730 750 770
TTTCAAAAAGGAATACACAATGATAATAATATTAACAATAATATTAATAATAATTAT
F Q K G I H N D N N I N N N I N N N N Y

790 810 830
ATCAATCCTTCAGATGTGGTAGGAAGAGAAAATACGAATGTACCAAATGTACGAAATGAT
I N P S D V V G R E N T N V P N V R N D

850 870 890
AACCATAACGTGGATAAAGTACACATTGCTATTATAGGAGATGGTGGTTTAAACAGGTGGA
N H N V D K V H I A I I G D G G L T G G

FIG.4b Teil 1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

910 930 950
ATGGCATTAGAAGCGTTAAATTATATTTTCATTCTTGAATTCTAAAATTTTAATTATTAT
M A L E A L N Y I S F L N S K I L I I Y

970 990 1010
AATGATAACGGACAAGTTTCTTTACCAACAAATGCCGTAAGTATATCAGGTAATAGACCT
N D N G Q V S L P T N A V S I S G N R P

1030 1050 1070
ATAGGTTCTATATCAGATCATTTACATTATTTTGTTCCTAATATAGAAGCAAATGCTGGT
I G S I S D H L H Y F V S N I E A N A G

1090 1110 1130
GATAATAAATTATCGAAAAATGCAAAAGAGAATAACATTTTGAATTTGAATTATGAT
D N K L S K N A K E N N I F E N L N Y D

1150 1170 1190
TATATTGGTGTGTGAATGGTAATAATACAGAAGAGCTCTTTAAAGTATTAAATAATATA
Y I G V V N G N N T E E L F K V L N N I

1210 1230 1250
AAAGAAAATAAATTAAAAAGAGCTACTGTTCTTCATGTACGTACAAAAAATCGAATGAT
K E N K L K R A T V L H V R T K K S N D

1270 1290 1310
TTTATAAATTCAAAGAGTCCAATAAGTATATTGCACTCTATAAAGAAAAATGAGATTTTC
F I N S K S P I S I L H S I K K N E I F

1330 1350 1370
CCGTTTCGATACCACTATATTAAATGGAAATATTCATAAGGAGAACAAGATAGAAGAAGAG
P F D T T I L N G N I H K E N K I E E E

1390 1410 1430
AAAAATGTGTCTTCATCTACAAAGTATGATGTAAATAATAAGAATAATAAAAAATAATGAT
K N V S S S T K Y D V N N K N N K N N D

1450 1470 1490
AATAGTGAAATTATAAAATATGAAGATATGTTTTCAAAGAGACGTTACAGATATATAT
N S E I I K Y E D M F S K E T F T D I Y

1510 1530 1550
ACAAATGAAATGTTAAATATTTAAAGAAAGATAGAAATATAATATTCCTATCTCCCGCT
T N E M L K Y L K K D R N I I F L S P A

1570 1590 1610
ATGTTAGGAGGATCAGGATTGGTTAAAATTAGTGAGCGTTATCCAAATAATGTATATGAT
M L G G S G L V K I S E R Y P N N V Y D

1630 1650 1670
GTAGGTATAGCAGAACAACATTCTGTAACTTTTCGAGCAGCTATGGCAATGAATAAGAAA
V G I A E Q H S V T F A A A M A M N K K

1690 1710 1730
TTAAAAATACAATTATGTATATATTCGACCTTTTACAAAGAGCATATGATCAAATTATA
L K I Q L C I Y S T F L Q R A Y D Q I I

1750 1770 1790
CATGATCTTAATTTACAAAATATACCTTTAAAGGTTATAATTGGAAGAAAGTGGATTAGTA
H D L N L Q N I P L K V I I G R S G L V

1810 1830 1850
GGAGAGGATGGGGCAACACATCAAGGTATATATGATTTATCTTATCTTGGGACACTTAAC
G E D G A T H Q G I Y D L S Y L G T L N

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1870 1890 1910
AATGCATATATAATATCTCCAAGTAATCAAGTTGATTTGAAAAGAGCTCTTAGGTTTGCT
N A Y I I S P S N Q V D L K R A L R F A
1930 1950 1970
TATTTAGATAAGGACCATTCTGTGTATATACGTATACCCAGAATGAACATATTAAGTGAT
Y L D K D H S V Y I R I P R M N I L S D
1990 2010 2030
AAGTACATGAAAGGATATTTGAACATTCATATGAAAAATCAGAGCAAAAATATCGATGTA
K Y M K G Y L N I H M K N E S K N I D V
2050 2070 2090
AACGTGGATATAAACGATGATGTAGATAAATATAGTGAAGAATATATGGACGATGATAAT
N V D I N D D V D K Y S E E Y M D D D N
2110 2130 2150
TTTATAAAATCGTTTATTGGAAAATCTAGAATTATTAAAATGGATAATGAAAATAATAAT
F I K S F I G K S R I I K M D N E N N N
2170 2190 2210
ACAAATGAACATTATTCAAGCAGAGGAGATACACAGACAAAAAAAAAAAAAGTTTGTATC
T N E H Y S S R G D T Q T K K K K V C I
2230 2250 2270
TTTAACATGGGTAGTATGCTTTTTAATGTAATTAATGCTATAAAAAGAAATTGAAAAGAA
F N M G S M L F N V I N A I K E I E K E
2290 2310 2330
CAATATATTTACATAATTATTCTTTTTCAATTGTTGATATGATATTTTTAAATCCTTTA
Q Y I S H N Y S F S I V D M I F L N P L
2350
GATAAAAATATGATA
D K N M I

FIG.4b Teil 3

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1 DEIYKEIYEL YVERNIPEYY ERKYFSEDIK KSVLFDIDKY NDVEFEKAIK
51 EEFINNGVYI NNIDNTYYKK ENILIMKKIL HYFPLLKLIN NPSDLKKLKK
101 QYLPLLAHEL KIFLFFIVNI TGGHFSSVLS SLEIQLLLLY IFNQPYDNVI
151 YDIGHQAYVH KILTGRKLLF LSLRNKKGIS GFLNIFESYI DKFGAGHSST
201 SLSAIQGYE AEWQVKNKEK YGNGDIEISD NANVTNNERI FQKGIHNDNN
251 INNNINNNNY INPSDVVGRE NTNVPNVRND NHNVDKVHIA IIGDGGLTGG
301 MALEALNYIS FLNSKILIIY NDNGQVSLPT NAVSISGNRP IGSISDHLHY
351 FVSNIENAG DNKLSKNAKE NNIFENLNYD YIGVVNGNNT EELFKVLNNI
401 KENKLKRVTV LHVTRKKSND FINSKSPISI LHSIKKNEIF PFDTTILNGN
451 IHKENKIEEE KNVSSSTKYD VNNKNNKNND NSEIIKYEDM FSKETFTDIY
501 TNEMLKYLKK DRNIIFLSPA MLGGSGLVKI SERYPNNVYD VGIAEQHSVT
551 FAAAMAMNKK LKIQLCIYST FLQRAYDQII HDLNLQNIPL KVIIGRSLV
601 GEDGATHQGI YDLSYLGTLN NAYIISPSNQ VDLKRALRFA YLDKDHSVYI
651 RIPRMNILSD KYMKGYNLNIH MKNESKNIDV NVDINDDDVK YSEEYMDDDN
701 FIKSFIGKSR IIKMDNENNN TNEHYSSRGD TQTKKKKVC I FNMGSMLFNV
751 INAIKEIEKE QYISHNYSFS IVDMIFLNPL DKNMI

FIG. 4c

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Dosis [mg/kg]	Parasitemie [%]	
	Formyl	Acetyl
300	0.0	0.0
30	0.0	0.0
10	0.0	0.0
5	0.06 ± 0.17	0.0
2	11.7 ± 16.5	0.86 ± 0.44
Kontrolle	65.9 ± 19.1	65.9 ± 19.1

Fig. 5

THIS PAGE BLANK (USPTO)

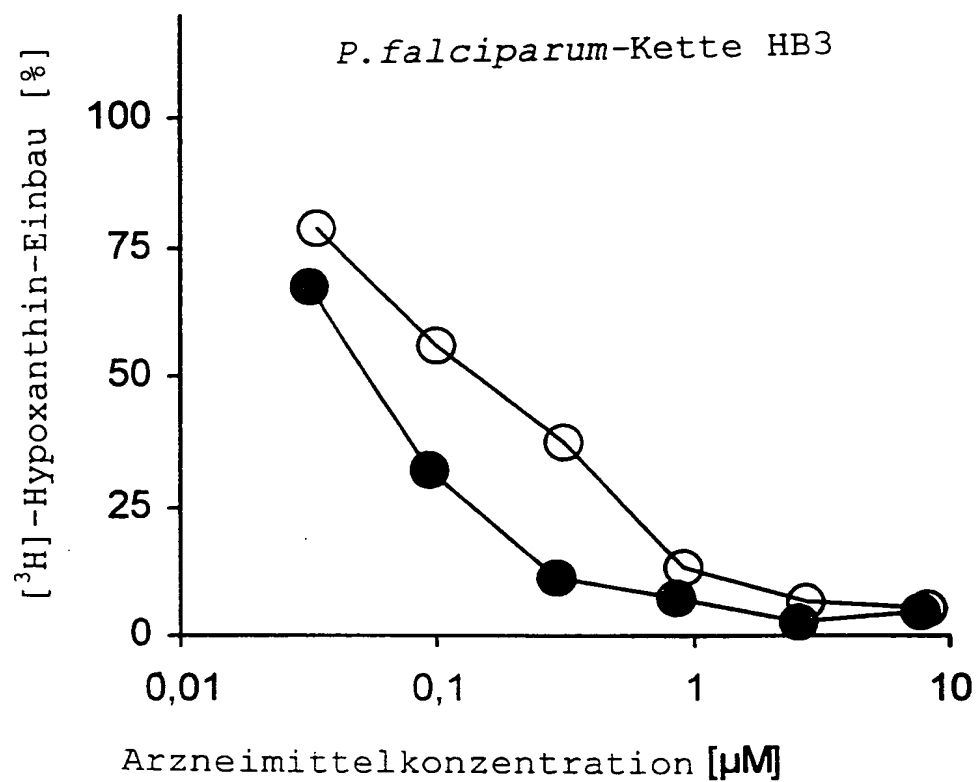


Fig. 6a

THIS PAGE BLANK (USPTO)

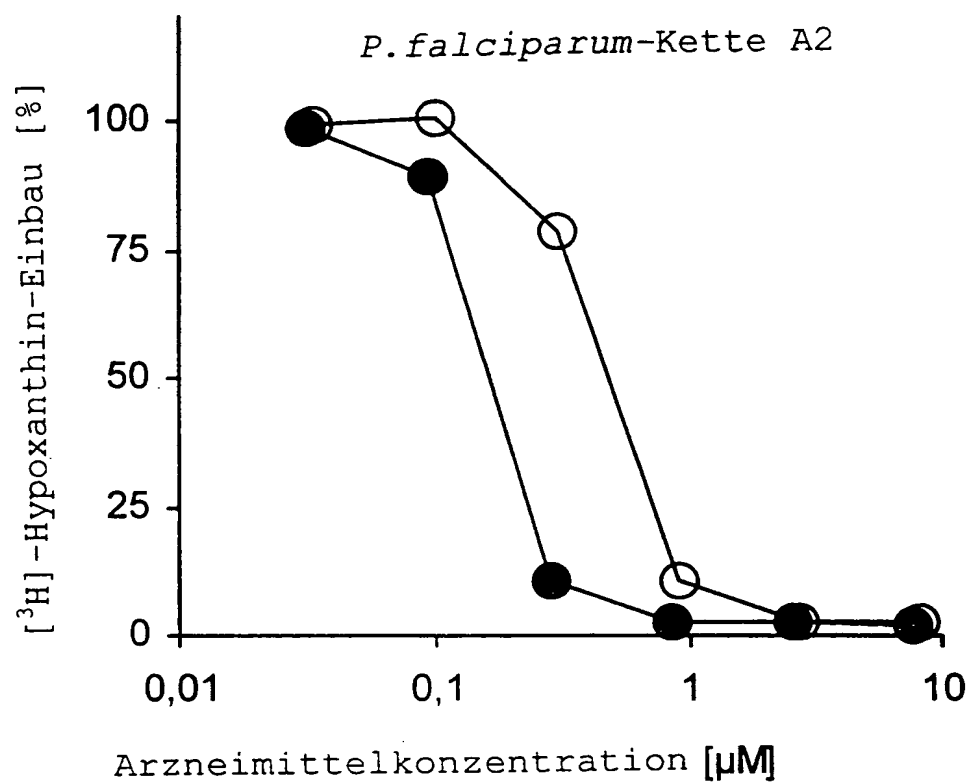


Fig. 6b

THIS PAGE BLANK (USPTO)

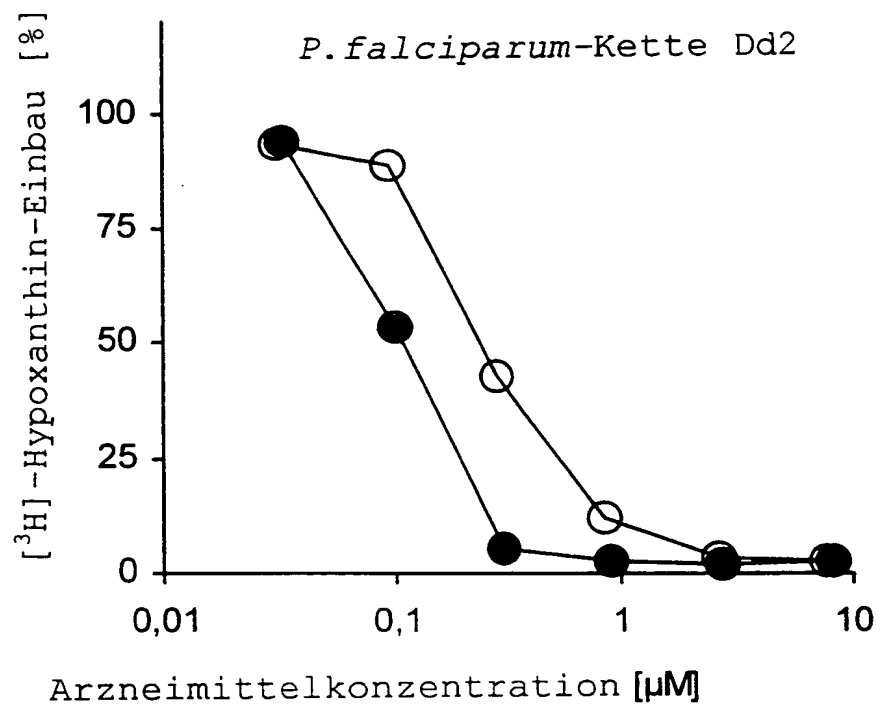
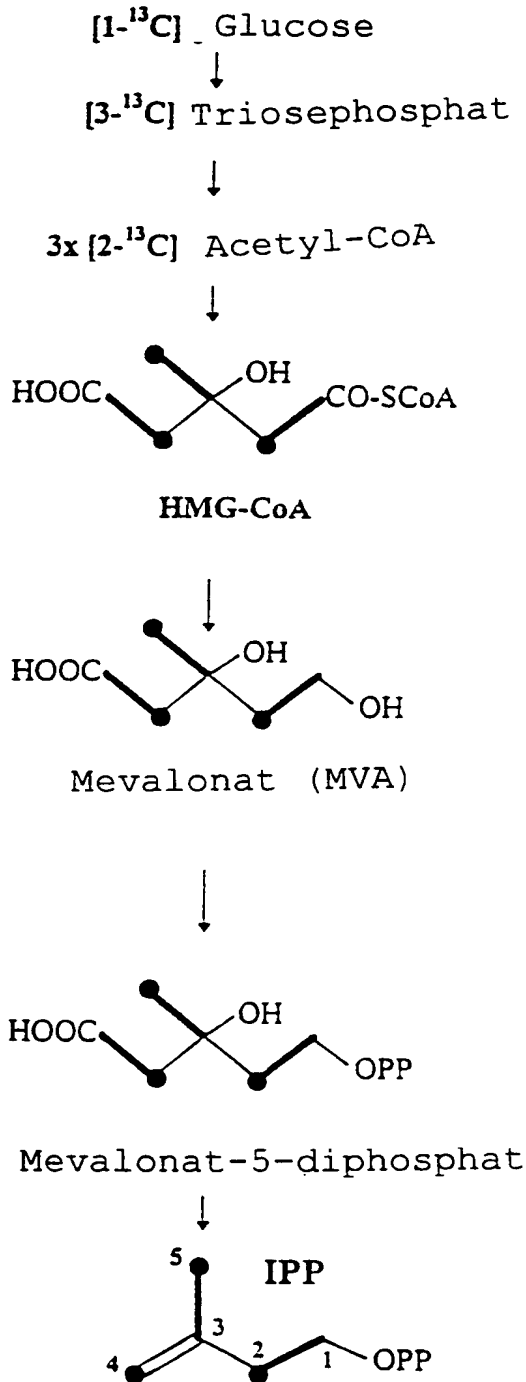


Fig. 6c

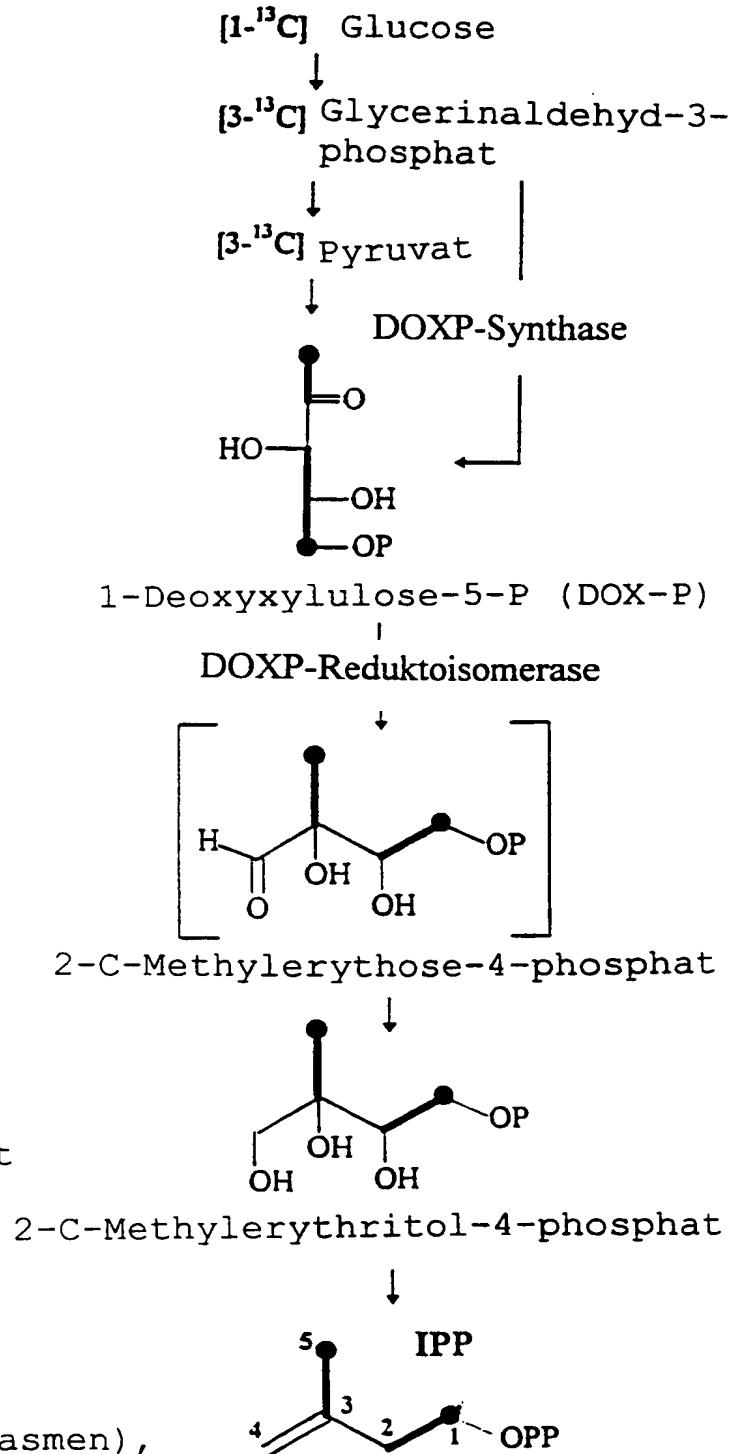
THIS PAGE BLANK (USPTO)

Klassischer Acetat/ Mevalonat-Pathway



höhere Pflanzen (Cytoplasmen),
Tiere, Pilze, Eubakterien

Alternativer DOX-P Pathway



höhere Pflanzen (Plastide),
Grünalgen, viele Eubakterien

Fig. 7

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Sequenzprotokoll

Anzahl der Sequenzen: 2

(1) ANGABEN ZU SEQUENZ ID NR: 1

Plasmodium falciparum 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatredukto-
isomerase(dxr)gen

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 1467 BASENPAARE

(B) ART: Nukleotidsequenz

(C) STAMM: HB3

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA

(iv) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

(A) ORGANISMUS: Plasmodium falsiparum

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: mRNA

(B) LAGE:1...1467

GEN=dxr

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Gen

(B) LAGE:1...1467

GEN=dxr

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

(B) LAGE:1...1467

GEN=dxr

FUNKTION: bei der Isopentenylidiphosphatbiosynthese beteiligt

Startcodon: 1

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase

PROTEIN: 488 Aminosäuren

ORGANISMUS: Plasmodium falciparum; (Apicomplexa)

STAMM: HB3

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO:1

ATG AAG AAA TAT ATT TAT ATA TAT TTT TTC TTC ATC ACA ATA ACT ATT	48
Met Lys Lys Tyr Ile Tyr Ile Tyr Phe Phe Phe Ile Thr Ile Thr Ile	
5 10 15	
AAT GAT TTA GTA ATA AAT AAT ACA TCA AAA TGT GTT TCC ATT GAA AGA	96
Asn Asp Leu Val Ile Asn Asn Thr Ser Lys Cys Val Ser Ile Glu Arg	
20 25 30	
AGA AAA AAT AAC GCA TAT ATA AAT TAT GGT ATA GGA TAT AAT GGA CCA	144
Arg Lys Asn Asn Ala Tyr Ile Asn Tyr Glu Ile Glu Tyr Asn Glu Pro	
35 40 45	
GAT AAT AAA ATA ACA AAG AGT AGA AGA TGT AAA AGA ATA AAG TTA TGC	192
Asp Asn Lys Ile Thr Lys Ser Arg Arg Cys Lys Arg Ile Lys Leu Cys	
50 55 60	
AAA AAG GAT TTA ATA GAT ATT GGT GCA ATA AAG AAA CCA ATT AAT GTA	240
Lys Lys Asp Leu Ile Asp Ile Glu Ala Ile Lys Lys Pro Ile Asn Val	
65 70 75 80	
GCA ATT TTT GGA AGT ACT GGT AGT ATA GGT ACG AAT GCT TTA AAT ATA	288
Ala Ile Phe Glu Ser Thr Glu Ser Ile Glu Thr Asn Ala Leu Asn Ile	
85 90 95	
ATA AGG GAG TGT AAT AAA ATT GAA AAT GTT TTT AAT GTT AAA GCA TTG	336
Ile Arg Glu Cys Asn Lys Ile Glu Asn Val Phe Asn Val Lys Ala Leu	
100 105 110	
TAT GTG AAT AAG AGT GTG AAT GAA TTA TAT GAA CAA GCT AGA GAA TTT	384
Tyr Val Asn Lys Ser Val Asn Glu Leu Tyr Glu Gln Ala Arg Glu Phe	
115 120 125	
TTA CCA GAA TAT TTG TGT ATA CAT GAT AAA AGT GTA TAT GAA GAA TTA	432
Leu Pro Glu Tyr Leu Cys Ile His Asp Lys Ser Val Tyr Glu Glu Leu	
130 135 140	
AAA GAA CTG GTA AAA AAT ATA AAA GAT TAT AAA CCT ATA ATA TTG TGT	480
Lys Glu Leu Val Lys Asn Ile Lys Asp Tyr Lys Pro Ile Ile Leu Cys	
145 150 155 160	
GGT GAT GAA GGG ATG AAA GAA ATA TGT AGT AGT AAT AGT ATA GAT AAA	528
Glu Asp Glu Glu Met Lys Glu Ile Cys Ser Ser Asn Ser Ile Asp Lys	
165 170 175	
ATA GTT ATT GGT ATT GAT TCT TTT CAA GGA TTA TAT TCT ACT ATG TAT	576
Ile Val Ile Glu Ile Asp Ser Phe Gln Glu Leu Tyr Ser Thr Met Tyr	
180 185 190	

THIS PAGE BLANK #15PT01

GCA	ATT	ATG	AAT	AAT	AAA	ATA	GTT	GCG	TTA	GCT	AAT	AAA	GAA	TCC	ATT	624
Ala	Ile	Met	Asn	Asn	Lys	Ile	Val	Ala	Leu	Ala	Asn	Lys	Glu	Ser	Ile	
		195					200					205				
GTC	TCT	GCT	GGT	TTC	TTT	TTA	AAG	AAA	TTA	TTA	AAT	ATT	CAT	AAA	AAT	672
Val	Ser	Ala	Glu	Phe	Phe	Leu	Lys	Lys	Leu	Leu	Asn	Ile	His	Lys	Asn	
	210					215					220					
GCA	AAG	ATA	ATA	CCT	GTT	GAT	TCA	GAA	CAT	AGT	GCT	ATA	TTT	CAA	TGT	720
Ala	Lys	Ile	Ile	Pro	Val	Asp	Ser	Glu	His	Ser	Ala	Ile	Phe	Gln	Cys	
225					230					235					240	
TTA	GAT	AAT	AAT	AAG	GTA	TTA	AAA	ACA	AAA	TGT	TTA	CAA	GAC	AAT	TTT	768
Leu	Asp	Asn	Asn	Lys	Val	Leu	Lys	Thr	Lys	Cys	Leu	Gln	Asp	Asn	Phe	
				245					250					255		
TCT	AAA	ATT	AAC	AAT	ATA	AAT	AAA	ATA	TTT	TTA	TGT	TCA	TCT	GGA	GGT	816
Ser	Lys	Ile	Asn	Asn	Ile	Asn	Lys	Ile	Phe	Leu	Cys	Ser	Ser	Glu	Glu	
			260					265					270			
CCA	TTT	CAA	AAT	TTA	ACT	ATG	GAC	GAA	TTA	AAA	AAT	GTA	ACA	TCA	GAA	864
Pro	Phe	Gln	Asn	Leu	Thr	Met	Asp	Glu	Leu	Lys	Asn	Val	Thr	Ser	Glu	
		275					280					285				
AAT	GCT	TTA	AAG	CAT	CCT	AAA	TGG	AAA	ATG	GGT	AAG	AAA	ATA	ACT	ATA	912
Asn	Ala	Leu	Lys	His	Pro	Lys	Trp	Lys	Met	Glu	Lys	Lys	Ile	Thr	Ile	
	290					295					300					
GAT	TCT	GCA	ACT	ATG	ATG	AAT	AAA	GGT	TTA	GAG	GTT	ATA	GAA	ACC	CAT	960
Asp	Ser	Ala	Thr	Met	Met	Asn	Lys	Glu	Leu	Glu	Val	Ile	Glu	Thr	His	
305					310					315					320	
TTT	TTA	TTT	GAT	GTA	GAT	TAT	AAT	GAT	ATA	GAA	GTT	ATA	GTA	CAT	AAA	1008
Phe	Leu	Phe	Asp	Val	Asp	Tyr	Asn	Asp	Ile	Glu	Val	Ile	Val	His	Lys	
				325					330					335		
GAA	TGC	ATT	ATA	CAT	TCT	TGT	GTT	GAA	TTT	ATA	GAC	AAA	TCA	GTA	ATA	1056
Glu	Cys	Ile	Ile	His	Ser	Cys	Val	Glu	Phe	Ile	Asp	Lys	Ser	Val	Ile	
			340					345					350			
AGT	CAA	ATG	TAT	TAT	CCA	GAT	ATG	CAA	ATA	CCC	ATA	TTA	TAT	TCT	TTA	1104
Ser	Gln	Met	Tyr	Tyr	Pro	Asp	Met	Gln	Ile	Pro	Ile	Leu	Tyr	Ser	Leu	
		355					360					365				
ACA	TGG	CCT	GAT	AGA	ATA	AAA	ACA	AAT	TTA	AAA	CCT	TTA	GAT	TTG	GCT	1152
Thr	Trp	Pro	Asp	Arg	Ile	Lys	Thr	Asn	Leu	Lys	Pro	Leu	Asp	Leu	Ala	
	370					375					380					
CAG	GTT	TCA	ACT	CTT	ACA	TTT	CAT	AAA	CCT	TCT	TTA	GAA	CAT	TTC	CCG	1200
Gln	Val	Ser	Thr	Leu	Thr	Phe	His	Lys	Pro	Ser	Leu	Glu	His	Phe	Pro	
385					390					395					400	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TGT	ATT	AAA	TTA	GCT	TAT	CAA	GCA	GGT	ATA	AAA	GGA	AAC	TTT	TAT	CCA	1248
Cys	Ile	Lys	Leu	Ala	Tyr	Gln	Ala	Glu	Ile	Lys	Glu	Asn	Phe	Tyr	Pro	
				405					410					415		
ACT	GTA	CTA	AAT	GCG	TCA	AAT	GAA	ATA	GCT	AAC	AAC	TTA	TTT	TTG	AAT	1296
Thr	Val	Leu	Asn	Ala	Ser	Asn	Glu	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu	Phe	Leu	Asn	
			420					425					430			
AAT	AAA	ATT	AAA	TAT	TTT	GAT	ATT	TCC	TCT	ATA	ATA	TCG	CAA	GTT	CTT	1344
Asn	Lys	Ile	Lys	Tyr	Phe	Asp	Ile	Ser	Ser	Ile	Ile	Ser	Gln	Val	Leu	
		435					440					445				
GAA	TCT	TTC	AAT	TCT	CAA	AAG	GTT	TCG	GAA	AAT	AGT	GAA	GAT	TTA	ATG	1392
Glu	Ser	Phe	Asn	Ser	Gln	Lys	Val	Ser	Glu	Asn	Ser	Glu	Asp	Leu	Met	
	450					455					460					
AAG	CAA	ATT	CTA	CAA	ATA	CAT	TCT	TGG	GCC	AAA	GAT	AAA	GCT	ACC	GAT	1440
Lys	Gln	Ile	Leu	Gln	Ile	His	Ser	Trp	Ala	Lys	Asp	Lys	Ala	Thr	Asp	
465					470					475					480	
ATA	TAC	AAC	AAA	CAT	AAT	TCT	TCA	TAG								1467
Ile	Tyr	Asn	Lys	His	Asn	Ser	Ser									
				485												

(2) ANGABEN ZU SEQUENZ ID NR: 2

Plasmodium Falciparum 1-Desoxy-D-Xylulose-5-phosphatsynthase (dxs) gen

(iii) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 3872 BASENPAARE

(B) ART: Nukleotidsequenz

(C) STAMM: HB3

(iv) ART DES MOLEKÜLS: DNA

(v) URSPRÜNGLICHE HERKUNFT:

(A) ORGANISMUS: Plasmodium falsiparum

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: mRNA

GEN=dxs

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatsynthase

(ix) MERKMAL

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(A) NAME/SCHLÜSSEL: Gen

(B) LAGE:1..3872

GEN=dxs

(ix) MERKMAL

(A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS

GEN=dxs

FUNKTION: bei der Isopentenylidiphosphatbiosynthese beteiligt
Startcodon: 1

PRODUKT=1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatsynthase

PROTEIN: 1205 Aminosäuren

ORGANISMUS: Plasmodium falciparum; (Apicomplexa)

STAMM: HB3

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO:2

```

GGTAATATAC GTATAATATA TATATAATAT ATTCTTACGT ATGTATCATT TATGAATCAT      60
AATAATATTC TAAATTTACC TTCCGTTTTT GCTCGATCTT CTCATTTTCG TTTCAGCTTT      120
TATCA ATG ATT TTT AAT TAT GTG TTT TTT AAG AAC TTT GTA CCA GTT GTT      170
      Met Ile Phe Asn Tyr Val Phe Phe Lys Asn Phe Val Pro Val Val
        1             5             10             15

CTA TAC ATT CTC CTT ATA ATA TAT ATT AAC TTA AAT GGC ATG AAT AAT      218
Leu Tyr Ile Leu Leu Ile Ile Tyr Ile Asn Leu Asn Gly Met Asn Asn
              20             25             30

AAA AAT CAA ATA AAA ACA GAA AAA ATT TAT ATA AAG AAA TTG AAT AGG      266
Lys Asn Gln Ile Lys Thr Glu Lys Ile Tyr Ile Lys Lys Leu Asn Arg
              35             40             45

TTG TCA AGG AAA AAT TCG TTA TGT AGT TCT AAA AAT AAA ATA GCA TGC      314
Leu Ser Arg Lys Asn Ser Leu Cys Ser Ser Lys Asn Lys Ile Ala Cys
              50             55             60

TTG TTC GAT ATA GGA AAT GAT GAT AAT AGA AAT ACG ACA TAT GGC TAT      362
Leu Phe Asp Ile Gly Asn Asp Asp Asn Arg Asn Thr Thr Tyr Gly Tyr
              65             70             75

AAT GTG AAT GTT AAA AAT GAT GAT ATT AAT TCC TTA CTA AAA AAT AAT      410
Asn Val Asn Val Lys Asn Asp Asp Ile Asn Ser Leu Leu Lys Asn Asn
              80             85             90             95

TAT AGT AAT AAA TTG TAC ATG GAT AAG AGG AAA AAT ATT AAT AAT GTA      458
Tyr Ser Asn Lys Leu Tyr Met Asp Lys Arg Lys Asn Ile Asn Asn Val
              100             105             110

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ATT	AGT	ACT	AAT	AAA	ATA	TCT	GGG	TCC	ATT	TCA	AAT	ATT	TGT	AGT	AGA	506
Ile	Ser	Thr	Asn	Lys	Ile	Ser	Gly	Ser	Ile	Ser	Asn	Ile	Cys	Ser	Arg	
			115					120					125			
AAT	CAA	AAA	GAA	AAT	GAA	CAA	AAA	AGA	AAT	AAA	CAA	AGA	TGT	TTA	ACT	554
Asn	Gln	Lys	Glu	Asn	Glu	Gln	Lys	Arg	Asn	Lys	Gln	Arg	Cys	Leu	Thr	
		130					135					140				
CAA	TGT	CAC	ACT	TAT	AAT	ATG	TCA	CAT	GAA	CAG	GAC	AAA	CTA	GCT	AAT	602
Gln	Cys	His	Thr	Tyr	Asn	Met	Ser	His	Glu	Gln	Asp	Lys	Leu	Ala	Asn	
	145					150					155					
GAT	AAT	AAT	AGG	AAT	AAT	AAA	AAG	AAT	TTT	AAT	TTA	TTA	TTT	ATA	AAT	650
Asp	Asn	Asn	Arg	Asn	Asn	Lys	Lys	Asn	Phe	Asn	Leu	Leu	Phe	Ile	Asn	
160					165					170					175	
TAT	TTT	AAT	TTG	AAA	CGA	ATG	AAA	AAT	TCT	CTT	CTA	AAT	AAA	GAC	AAT	698
Tyr	Phe	Asn	Leu	Lys	Arg	Met	Lys	Asn	Ser	Leu	Leu	Asn	Lys	Asp	Asn	
			180						185					190		
TTC	TTT	TAC	TGT	AAA	GAA	AAA	AAA	TTG	TCA	TTT	CTG	CAT	AAG	GCC	TAT	746
Phe	Phe	Tyr	Cys	Lys	Glu	Lys	Lys	Leu	Ser	Phe	Leu	His	Lys	Ala	Tyr	
			195					200					205			
AAA	AAA	AAA	AAT	TGC	ACT	TTT	CAA	AAT	TAT	AGT	TTA	AAA	AGA	AAA	TCT	794
Lys	Lys	Lys	Asn	Cys	Thr	Phe	Gln	Asn	Tyr	Ser	Leu	Lys	Arg	Lys	Ser	
		210					215					220				
AAT	CGT	GAT	TCA	CAT	AAA	TTG	TTT	TCT	GGA	GAA	TTT	GAC	GAT	TAT	ACA	842
Asn	Arg	Asp	Ser	His	Lys	Leu	Phe	Ser	Gly	Glu	Phe	Asp	Asp	Tyr	Thr	
	225					230					235					
AAT	AAT	AAT	GCT	TTA	TAT	GAA	TCC	GAA	AAA	AAA	GAA	TAC	ATT	ACA	CTA	890
Asn	Asn	Asn	Ala	Leu	Tyr	Glu	Ser	Glu	Lys	Lys	Glu	Tyr	Ile	Thr	Leu	
240					245					250					255	
AAT	AAT	AAT	AAT	AAA	AAT	AAT	AAT	AAT	AAA	AAT	AAT	GAT	AAT	AAA	AAT	938
Asn	Asn	Asn	Asn	Lys	Asn	Asn	Asn	Asn	Lys	Asn	Asn	Asp	Asn	Lys	Asn	
				260					265					270		
AAT	GAT	AAT	AAT	GAT	TAT	AAT	AAT	AAT	AAT	AGT	TGT	AAT	AAT	TTA	GGA	986
Asn	Asp	Asn	Asn	Asp	Tyr	Asn	Asn	Asn	Asn	Ser	Cys	Asn	Asn	Leu	Gly	
			275					280						285		
GAG	AGA	TCC	AAT	CAT	TAT	GAT	AAT	TAT	GGT	GGA	GAT	AAT	AAT	AAT	CCA	1034
Glu	Arg	Ser	Asn	His	Tyr	Asp	Asn	Tyr	Gly	Gly	Asp	Asn	Asn	Asn	Pro	
		290					295					300				
TGT	AAT	AAT	AAT	AAT	GAC	AAA	TAT	GAT	ATA	GGA	AAA	TAT	TTC	AAA	CAG	1082
Cys	Asn	Asn	Asn	Asn	Asp	Lys	Tyr	Asp	Ile	Gly	Lys	Tyr	Phe	Lys	Gln	
	305					310					315					

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ATT Ile 320	AAT Asn	ACC Thr	TTT Phe	ATT Ile	AAT Asn 325	ATT Ile	GAT Asp	GAA Glu	TAT Tyr	AAA Lys 330	ACT Thr	ATA Ile	TAT Tyr	GGT Gly	GAT Asp 335	1130
GAA Glu	ATA Ile	TAT Tyr	AAA Lys	GAA Glu 340	ATA Ile	TAT Tyr	GAA Glu	CTA Leu	TAT Tyr	GTA Val	GAA Glu	AGA Arg	AAT Asn	ATT Ile	CCT Pro 350	1178
GAA Glu	TAT Tyr	TAT Tyr	GAA Glu 355	CGA Arg	AAA Lys	TAT Tyr	TTT Phe	TCA Ser	GAA Glu	GAT Asp	ATT Ile	AAA Lys	AAG Lys	AGT Ser	GTC Val	1226
CTA Leu	TTT Phe	GAT Asp 370	ATA Ile	GAT Asp	AAA Lys	TAT Tyr	AAT Asn 375	GAT Asp	GTC Val	GAA Glu	TTT Phe	GAA Glu 380	AAA Lys	GCT Ala	ATA Ile	1274
AAA Lys 385	GAA Glu	GAA Glu	TTT Phe	ATA Ile	AAT Asn	AAT Asn 390	GGA Gly	GTT Val	TAT Tyr	ATT Ile	AAT Asn 395	AAT Asn	ATA Ile	GAT Asp	AAT Asn	1322
ACA Thr 400	TAT Tyr	TAT Tyr	AAA Lys	AAA Lys	GAA Glu 405	AAT Asn	ATT Ile	TTA Leu	ATA Ile	ATG Met 410	AAA Lys	AAG Lys	ATA Ile	TTA Leu	CAT His 415	1370
TAT Tyr	TTC Phe	CCA Pro	TTA Leu	TTA Leu 420	AAA Lys	TTA Leu	ATT Ile	AAT Asn	AAT Asn 425	CCA Pro	TCA Ser	GAT Asp	TTA Leu	AAA Lys	AAG Lys	1418
TTA Leu	AAA Lys	AAA Lys	CAA Gln 435	TAT Tyr	TTA Leu	CCT Pro	TTA Leu	TTA Leu 440	GCA Ala	CAT His	GAA Glu	TTA Leu	AAA Lys	ATA Ile	TTT Phe	1466
TTA Leu	TTT Phe	TTT Phe 450	ATT Ile	GTA Val	AAT Asn	ATA Ile	ACA Thr 455	GGA Gly	GGT Gly	CAT His	TTT Phe	TCC Ser	TCT Ser	GTT Val	TTA Leu	1514
AGC Ser 465	TCT Ser	TTA Leu	GAA Glu	ATT Ile	CAA Gln	TTA Leu	TTA Leu	TTA Leu	TTG Leu	TAT Tyr	ATT Ile	TTT Phe	AAT Asn	CAA Gln	CCA Pro	1562
TAT Tyr 480	GAT Asp	AAT Asn	GTT Val	ATA Ile	TAT Tyr	GAT Asp	ATA Ile	GGA Gly	CAT His	CAA Gln	GCA Ala	TAT Tyr	GTA Val	CAT His	AAG Lys 495	1610
ATA Ile	TTG Leu	ACC Thr	GGA Gly	AGA Arg 500	AAA Lys	CTA Leu	TTA Leu	TTT Phe	CTA Leu 505	TCA Ser	TTA Leu	AGA Arg	AAT Asn	AAA Lys	AAA Lys	1658
GGT Gly	ATT Ile	AGT Ser	GGA Gly 515	TTC Phe	CTA Leu	AAT Asn	ATT Ile	TTT Phe 520	GAA Glu	AGT Ser	ATT Ile	TAT Tyr	GAT Asp	AAA Lys	TTT Phe	1706

THIS PAGE BLANK (USPTO)

GGG Gly	GCT Ala	GGT Gly	CAC His	AGT Ser	TCC Ser	ACT Thr	TCA Ser	TTA Leu	AGT Ser	GCT Ala	ATA Ile	CAA Gln	GGA Gly	TAT Tyr	TAT Tyr	1754
		530					535					540				
GAA Glu	GCC Ala	GAG Glu	TGG Trp	CAA Gln	GTG Val	AAG Lys	AAT Asn	AAA Lys	GAA Glu	AAA Lys	TAT Tyr	GGA Gly	AAT Asn	GGA Gly	GAT Asp	1802
	545					550					555					
ATA Ile	GAA Glu	ATA Ile	AGT Ser	GAT Asp	AAC Asn	GCA Ala	AAT Asn	GTC Val	ACG Thr	AAT Asn	AAT Asn	GAA Glu	AGG Arg	ATA Ile	TTT Phe	1850
					565					570					575	
CAA Gln	AAA Lys	GGA Gly	ATA Ile	CAC His	AAT Asn	GAT Asp	AAT Asn	AAT Asn	ATT Ile	AAC Asn	AAT Asn	AAT Asn	ATT Ile	AAT Asn	AAT Asn	1898
				580					585					590		
AAT Asn	AAT Asn	TAT Tyr	ATC Ile	AAT Asn	CCT Pro	TCA Ser	GAT Asp	GTG Val	GTA Val	GGA Gly	AGA Arg	GAA Glu	AAT Asn	ACG Thr	AAT Asn	1946
			595					600					605			
GTA Val	CCA Pro	AAT Asn	GTA Val	CGA Arg	AAT Asn	GAT Asp	AAC Asn	CAT His	AAC Asn	GTG Val	GAT Asp	AAA Lys	GTA Val	CAC His	ATT Ile	1994
		610					615					620				
GCT Ala	ATT Ile	ATA Ile	GGA Gly	GAT Asp	GGT Gly	GGT Gly	TTA Leu	ACA Thr	GGT Gly	GGA Gly	ATG Met	GCA Ala	TTA Leu	GAA Glu	GCG Ala	2042
	625					630					635					
TTA Leu	AAT Asn	TAT Tyr	ATT Ile	TCA Ser	TTC Phe	TTG Leu	AAT Asn	TCT Ser	AAA Lys	ATT Ile	TTA Leu	ATT Ile	ATT Ile	TAT Tyr	AAT Asn	2090
					645					650					655	
GAT Asp	AAC Asn	GGA Gly	CAA Gln	GTT Val	TCT Ser	TTA Leu	CCA Pro	ACA Thr	AAT Asn	GCC Ala	GTA Val	AGT Ser	ATA Ile	TCA Ser	GGT Gly	2138
				660					665					670		
AAT Asn	AGA Arg	CCT Pro	ATA Ile	GGT Gly	TCT Ser	ATA Ile	TCA Ser	GAT Asp	CAT His	TTA Leu	CAT His	TAT Tyr	TTT Phe	GTT Val	TCT Ser	2186
			675					680					685			
AAT Asn	ATA Ile	GAA Glu	GCA Ala	AAT Asn	GCT Ala	GGT Gly	GAT Asp	AAT Asn	AAA Lys	TTA Leu	TCG Ser	AAA Lys	AAT Asn	GCA Ala	AAA Lys	2234
		690					695					700				
GAG Glu	AAT Asn	AAC Asn	ATT Ile	TTT Phe	GAA Glu	AAT Asn	TTG Leu	AAT Asn	TAT Tyr	GAT Asp	TAT Tyr	ATT Ile	GGT Gly	GTT Val	GTG Val	2282
	705					710					715					
AAT Asn	GGT Gly	AAT Asn	AAT Asn	ACA Thr	GAA Glu	GAG Glu	CTC Leu	TTT Phe	AAA Lys	GTA Val	TTA Leu	AAT Asn	AAT Asn	ATA Ile	AAA Lys	2330
	720				725					730					735	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

GAA	AAT	AAA	TTA	AAA	AGA	GCT	ACT	GTT	CTT	CAT	GTA	CGT	ACA	AAA	AAA	2378
Glu	Asn	Lys	Leu	Lys	Arg	Ala	Thr	Val	Leu	His	Val	Arg	Thr	Lys	Lys	
				740					745					750		
TCG	AAT	GAT	TTT	ATA	AAT	TCA	AAG	AGT	CCA	ATA	AGT	ATA	TTG	CAC	TCT	2426
Ser	Asn	Asp	Phe	Ile	Asn	Ser	Lys	Ser	Pro	Ile	Ser	Ile	Leu	His	Ser	
			755					760					765			
ATA	AAG	AAA	AAT	GAG	ATT	TTC	CCT	TTC	GAT	ACC	ACT	ATA	TTA	AAT	GGA	2474
Ile	Lys	Lys	Asn	Glu	Ile	Phe	Pro	Phe	Asp	Thr	Thr	Ile	Leu	Asn	Gly	
		770					775					780				
AAT	ATT	CAT	AAG	GAG	AAC	AAG	ATA	GAA	GAA	GAG	AAA	AAT	GTG	TCT	TCA	2522
Asn	Ile	His	Lys	Glu	Asn	Lys	Ile	Glu	Glu	Glu	Lys	Asn	Val	Ser	Ser	
	785					790					795					
TCT	ACA	AAG	TAT	GAT	GTA	AAT	AAT	AAG	AAT	AAT	AAA	AAT	AAT	GAT	AAT	2570
Ser	Thr	Lys	Tyr	Asp	Val	Asn	Asn	Lys	Asn	Asn	Lys	Asn	Asn	Asp	Asn	
800					805					810					815	
AGT	GAA	ATT	ATA	AAA	TAT	GAA	GAT	ATG	TTT	TCA	AAA	GAG	ACG	TTC	ACA	2618
Ser	Glu	Ile	Ile	Lys	Tyr	Glu	Asp	Met	Phe	Ser	Lys	Glu	Thr	Phe	Thr	
				820					825					830		
GAT	ATA	TAT	ACA	AAT	GAA	ATG	TTA	AAA	TAT	TTA	AAG	AAA	GAT	AGA	AAT	2666
Asp	Ile	Tyr	Thr	Asn	Glu	Met	Leu	Lys	Tyr	Leu	Lys	Lys	Asp	Arg	Asn	
			835					840					845			
ATA	ATA	TTC	CTA	TCT	CCC	GCT	ATG	TTA	GGA	GGA	TCA	GGA	TTG	GTT	AAA	2714
Ile	Ile	Phe	Leu	Ser	Pro	Ala	Met	Leu	Gly	Gly	Ser	Gly	Leu	Val	Lys	
		850					855					860				
ATT	AGT	GAG	CGT	TAT	CCA	AAT	AAT	GTA	TAT	GAT	GTA	GGT	ATA	GCA	GAA	2762
Ile	Ser	Glu	Arg	Tyr	Pro	Asn	Asn	Val	Tyr	Asp	Val	Gly	Ile	Ala	Glu	
	865					870					875					
CAA	CAT	TCT	GTA	ACT	TTC	GCA	GCA	GCT	ATG	GCA	ATG	AAT	AAG	AAA	TTA	2810
Gln	His	Ser	Val	Thr	Phe	Ala	Ala	Ala	Met	Ala	Met	Asn	Lys	Lys	Leu	
880					885					890					895	
AAA	ATA	CAA	TTA	TGT	ATA	TAT	TCG	ACC	TTT	TTA	CAA	AGA	GCA	TAT	GAT	2858
Lys	Ile	Gln	Leu	Cys	Ile	Tyr	Ser	Thr	Phe	Leu	Gln	Arg	Ala	Tyr	Asp	
				900					905					910		
CAA	ATT	ATA	CAT	GAT	CTT	AAT	TTA	CAA	AAT	ATA	CCT	TTA	AAG	GTT	ATA	2906
Gln	Ile	Ile	His	Asp	Leu	Asn	Leu	Gln	Asn	Ile	Pro	Leu	Lys	Val	Ile	
			915					920					925			
ATT	GGA	AGA	AGT	GGA	TTA	GTA	GGA	GAG	GAT	GGG	GCA	ACA	CAT	CAA	GGT	2954
Ile	Gly	Arg	Ser	Gly	Leu	Val	Gly	Glu	Asp	Gly	Ala	Thr	His	Gln	Gly	
		930					935					940				

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ATA Ile	TAT Tyr	GAT Asp	TTA Leu	TCT Ser	TAT Tyr	CTT Leu	GGG Gly	ACA Thr	CTT Leu	AAC Asn	AAT Asn	GCA Ala	TAT Tyr	ATA Ile	ATA Ile	3002
945						950					955					
TCT Ser	CCA Pro	AGT Ser	AAT Asn	CAA Gln	GTT Val	GAT Asp	TTG Leu	AAA Lys	AGA Arg	GCT Ala	CTT Leu	AGG Arg	TTT Phe	GCT Ala	TAT Tyr	3050
960					965					970					975	
TTA Leu	GAT Asp	AAG Lys	GAC Asp	CAT His	TCT Ser	GTG Val	TAT Tyr	ATA Ile	CGT Arg	ATA Ile	CCC Pro	AGA Arg	ATG Met	AAC Asn	ATA Ile	3098
				980					985					990		
TTA Leu	AGT Ser	GAT Asp	AAG Lys	TAC Tyr	ATG Met	AAA Lys	GGA Gly	TAT Tyr	TTG Leu	AAC Asn	ATT Ile	CAT His	ATG Met	AAA Lys	AAT Asn	3146
			995				1000					1005				
GAG Glu	AGC Ser	AAA Lys	AAT Asn	ATC Ile	GAT Asp	GTA Val	AAC Asn	GTG Val	GAT Asp	ATA Ile	AAC Asn	GAT Asp	GAT Asp	GTA Val	GAT Asp	3194
		1010				1015						1020				
AAA Lys	TAT Tyr	AGT Ser	GAA Glu	GAA Glu	TAT Tyr	ATG Met	GAC Asp	GAT Asp	GAT Asp	AAT Asn	TTT Phe	ATA Ile	AAA Lys	TCG Ser	TTT Phe	3242
1025						1030					1035					
ATT Ile	GGA Gly	AAA Lys	TCT Ser	AGA Arg	ATT Ile	ATT Ile	AAA Lys	ATG Met	GAT Asp	AAT Asn	GAA Glu	AAT Asn	AAT Asn	AAT Asn	ACA Thr	3290
1040					1045					1050					1055	
AAT Asn	GAA Glu	CAT His	TAT Tyr	TCA Ser	AGC Ser	AGA Arg	GGA Gly	GAT Asp	ACA Thr	CAG Gln	ACA Thr	AAA Lys	AAA Lys	AAA Lys	AAA Lys	3338
				1060					1065					1070		
GTT Val	TGT Cys	ATC Ile	TTT Phe	AAC Asn	ATG Met	GGT Gly	AGT Ser	ATG Met	CTT Leu	TTT Phe	AAT Asn	GTA Val	ATT Ile	AAT Asn	GCT Ala	3386
			1075			1080						1085				
ATA Ile	AAA Lys	GAA Glu	ATT Ile	GAA Glu	AAA Lys	GAA Glu	CAA Gln	TAT Tyr	ATT Ile	TCA Ser	CAT His	AAT Asn	TAT Tyr	TCT Ser	TTT Phe	3434
	1090					1095						1100				
TCA Ser	ATT Ile	GTT Val	GAT Asp	ATG Met	ATA Ile	TTT Phe	TTA Leu	AAT Asn	CCT Pro	TTA Leu	GAT Asp	AAA Lys	AAT Asn	ATG Met	ATA Ile	3482
1105					1110						1115					
GAT Asp	CAT His	GTA Val	ATA Ile	AAA Lys	CAA Gln	AAT Asn	AAA Lys	CAT His	CAA Gln	TAT Tyr	TTA Leu	ATT Ile	ACT Thr	TAT Tyr	GAA Glu	3530
1120				1125					1130					1135		
GAT Asp	AAT Asn	ACT Thr	ATA Ile	GGT Gly	GGT Gly	TTT Phe	TCT Ser	ACA Thr	CAT His	TTC Phe	AAT Asn	AAT Asn	TAT Tyr	TTA Leu	ATA Ile	3578
				1140				1145						1150		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

GAA AAT AAT TAT ATT ACA AAA CAT AAC TTA TAT GTT CAT AAT ATT TAT	3626
Glu Asn Asn Tyr Ile Thr Lys His Asn Leu Tyr Val His Asn Ile Tyr	
1155 1160 1165	
TTA TCT AAT GAG CCA ATT GAA CAT GCA TCT TTT AAG GAT CAA CAA GAA	3674
Leu Ser Asn Glu Pro Ile Glu His Ala Ser Phe Lys Asp Gln Gln Glu	
1170 1175 1180	
GTC GTC AAA ATG GAT AAA TGT AGT CTT GTC AAT AGA ATT AAA AAT TAT	3722
Val Val Lys Met Asp Lys Cys Ser Leu Val Asn Arg Ile Lys Asn Tyr	
1185 1190 1195	
CTT AAA AAT AAT CCT ACA TGA TGTAAGATAA ATATATATTT CTAAAATTAT	3773
Leu Lys Asn Asn Pro Thr -	
1200 1205	
TTTTTTTTTA TACTTTAATG TGTACAATAA AATATATATC TAAATATATT TTATTTGTAC	3833
GCTTTTTTTTT TTTTTTTTTT AATTGTTATT TTTGTATAT	3872

THIS PAGE BLANK (USPTO)